

# THÈSE

Pour obtenir le grade de  
**Docteur**

Délivré par l'**Université de Montpellier**

Préparée au sein de l'école doctorale **Gaïa**  
Et de l'unité de recherche **HortSys**

Spécialité : **Écologie Fonctionnelle et Sciences  
Agronomiques**

Présentée par **Mathilde Capelli**

**Décrypter l'irrégularité de production des fruitiers  
tropicaux via l'analyse des coûts de la reproduction.  
Le cas du manguier (*Mangifera indica* L.)**

**Soutenue le 26 Juin 2017 devant le jury composé de :**

Daniel BARTHELEMY, Directeur de recherche, CIRAD

Hervé COCHARD, Directeur de recherche, INRA

Jens WÜNSCHE, Professeur Université de Hohenheim

Marie-Odile JORDAN, Chargée de recherche, INRA

Frédéric NORMAND, Chercheur, CIRAD

Pierre-Éric LAURI, Ingénieur de recherche, INRA

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Directeur de thèse

Co-directeur de thèse





---

## Remerciements

---

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury pour avoir bien voulu analyser et étudier mon travail. Merci à Daniel Barthélémy d'avoir accepté d'être le président du jury, et à Hervé Cochard et Jens Wünsche d'avoir accepté d'être rapporteurs pour cette thèse. Merci également à Marie-Odile Jordan d'avoir accepté d'être examinateur.

Je remercie le Cirad qui m'a accordée une demi-bourse, une petite prolongation de deux mois, et qui a financé une partie de mon séjour en Australie. L'autre demi-bourse a été financée par des fonds européens du FEDER et par la Région Réunion, que je remercie également. Je remercie l'unité Hortsys qui a financé mon fonctionnement, ainsi que l'Ecole Doctorale Gaïa qui a participé au financement de mon voyage et séjour en Australie.

Je tiens particulièrement à remercier Frédéric Normand et Pierre-Éric Lauri, mes deux directeurs de thèse. Merci Frédéric d'avoir été aussi présent au cours de ces trois années et demie, d'avoir pris le temps de m'aider, pour la rédaction, les expérimentations, ainsi que pour toute la partie administrative. Merci de ta patience, de tes remarques, et de tes discussions très constructives, qui m'ont permis de bien évoluer au cours de cette thèse. Merci à Pierre-Eric, qui, malgré la distance, a toujours trouvé du temps pour relire et commenter mes documents, et qui a toujours été disponible pour m'aider à construire mes idées et ma réflexion.

Je remercie Denis Vile, Doyle McKey, ainsi que Mathieu Léchaudel d'avoir fait partie de mes trois comités de thèse, et de m'avoir aidée et conseillée tout au long de ma thèse.

Merci également à tous mes collègues de Bassin plat (Marie<sup>3</sup>, Rosemy, Elodie, Séverine et ses lancées de noisettes, Isabelle, Frédéric<sup>2</sup>, Christian, Thierry, Alain, Delphine, Sylvie... et tous les autres !) qui m'ont permis de m'intégrer et d'apprécier chaque repas et chaque moment sur la station. Un merci particulier à Doralice, ainsi qu'à Muriel, qui m'ont aidée dans mes expérimentations, et pas des plus reposantes ! Je voulais également remercier mes très nombreux colocs pour m'avoir soutenue pendant ces trois années, ainsi que toutes les personnes rencontrées à la Réunion au cours de cette thèse (Lucile, Solène, Laura, Hélène, Mélanie, Hugo, Claire, Cyprien, Nico, Juju, Agathe, Shannti...).

Je voudrais remercier Christine Sanier, Jean-Luc Verdeil et Marc Lartaud de l'équipe du Cirad PHIV à Montpellier, qui m'ont aidée à réaliser mes expérimentations histologiques et qui ont pris le temps de me former et de m'expliquer le fonctionnement de la plateforme.

I would like to thank all my Australian colleagues and friends, Ian and Kay, Paula, Catherine and Jason, Carole, Anahita, Cheryl, Ram, James, Pat, Donna, David Inès and David Kunh, François Barbier and Christine Beveridge, who help me during my three-month trip. Thank you for making me discover Mareeba and surroundings, and for introducing me to Australian lifestyle and mango tree culture.

Et enfin, merci à ma famille et mes amis restés en métropole (Anna, Lucille, Mag, Marjo...) ou partis loin (Mélo) de m'avoir soutenue et encouragée pendant ces trois années.

---

## EIR-A

---

Ma thèse est inscrite à l'Ecole Internationale de Recherche d'Agreenium (**EIR-A** ; <http://www.iavff-agreenium.fr/Recherche-et-formation/EIR-A-un-parcours-doctoral-d-excellence>), qui propose un parcours doctoral d'excellence validé par le label Agreenium. Ce parcours complète la formation doctorale dispensée par l'établissement doctoral, et a pour ambition d'améliorer l'employabilité des doctorants par une ouverture à l'international et une sensibilisation aux grands enjeux de la société.

Ce parcours propose deux séminaires en métropole dont les thèmes englobent les enjeux mondiaux actuels, et accompagne les doctorants lors de leur stage de 3 mois à l'étranger, obligatoire pour l'obtention du label.



---

## Publications

---

### ➔ Publications dans des revues à facteur d'impact

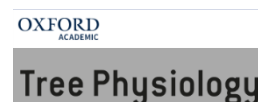
**Capelli, M.**, Lauri, P.-É., and Normand, F. (2016). Deciphering the Costs of Reproduction in Mango – Vegetative Growth Matters. *Frontiers in Plant Science*. 7:1531. doi: 10.3389/fpls.2016.01531  
IF: 4,495 (2015)



**Capelli, M.**, Lauri, P.-É., and Normand, F. (2017). Differential Effects of Reproductive and Vegetative Growth on the Anatomy and Hydraulic Traits of Mango Growth Units. *En révision pour Annals of Botany*.  
IF: 3,982 (2015)



**Capelli, M.**, Lauri, P.-É., Léchaudel, M., and Normand, F. (2017). Fruit Hormones and Carbohydrates Mobilization Inhibited and Delayed Vegetative Bud Outgrowth in Mango. *En préparation, soumission prévue à Tree Physiology*.  
IF: 3,587 (2015)



### ➔ Communications orales à des congrès (la personne ayant présenté ou allant présenter est soulignée)

Normand, F., **Capelli, M.**, and Lauri, P.-É. (2016). The Costs of Reproduction in Plants: a Novel Approach to Study Irregular Bearing of Fruit Crops. *Acta Horticulturae*. 1130: 207-213. DOI 10.17660/ActaHortic.2016.1130.30



**Capelli, M.**, Lauri, P.-É., and Normand, F. (2015). Effects of Vegetative Growth on Flowering and Fruiting at the Tree, Scaffold Branch and Growth Unit Scales. Implications for irregular bearing studies in mango. In *XI International Mango Symposium*, 2015-09-28/2015-10-02, Darwin, Australia.  
Sera publié dans la revue *Acta Horticulturae*.



Normand, F., Boudon, F., **Capelli, M.**, Dambreville, A., and Lauri, P.-É. (2017). Linking vegetative growth, reproduction and irregular bearing in the mango tree. In *International Symposium on Flowering, Fruit Set and Alternate Bearing*, 2017-06-19/2017-06-23, Palermo, Italy.  
Sera publié dans la revue *Acta Horticulturae*.



Normand, F., **Capelli, M.**, and Lauri, P.-É. (2017). More leaves, more fruits, is it so simple? Insights into a scale-dependent relationship. In *XII International Mango Symposium*, 2017-07-10/2017-07-16, Baise City, Guangxi (China).  
Sera publié dans la revue *Acta Horticulturae*.





---

## Sommaire

---

<b>Introduction.....</b>	<b>11</b>
1. Cadre général.....	11
2. Objectifs de la thèse.....	12
3. Plan du mémoire.....	13
<b>I. Définitions et concepts.....</b>	<b>17</b>
1. L'irrégularité de production.....	17
A. Définitions.....	17
B. Indices d'irrégularité de production.....	20
C. Facteurs déclenchant et entretenant l'irrégularité de production.....	24
2. Les coûts de la reproduction.....	30
A. Définitions.....	30
B. Historique.....	31
C. Détection des coûts de la reproduction et les problèmes liés.....	32
D. Exemples d'étude des coûts de la reproduction chez des espèces sauvages.....	34
E. Coûts de la reproduction en horticulture fruitière.....	35
<b>II. Le manguiier, problématique et hypothèses.....</b>	<b>39</b>
1. Généralités sur le manguiier.....	39
A. Taxonomie, origine et distribution.....	39
B. Production mondiale.....	41
C. Botanique.....	41
D. Cycle phénologique et croissance.....	45
E. Conditions de culture.....	49
2. Le manguiier à la Réunion.....	50
A. Les conditions climatiques de la Réunion .....	50
B. La culture du manguiier à la Réunion.....	52
3. Problèmes liés à la culture du manguiier.....	53
4. Intérêts du manguiier comme modèle d'étude.....	54
5. État des connaissances sur l'irrégularité de production chez le manguiier.....	55
6. Problématiques, objectifs et hypothèses associées.....	58

<b>III. Matériels et méthodes</b>	67
1. Mise en place des expérimentations	67
A. Cultivars étudiés	67
B. Parcelles d'étude	72
2. Collecte et analyse des données	74
A. Indices d'irrégularité de production	74
B. Base de données Doralice : développement et reproduction	75
a) Mise en place de la base	75
b) Exploitation de la base	77
C. Identification des mécanismes impliqués dans les coûts de la reproduction	78
a) Effets de la reproduction sur l'anatomie, les caractéristiques hydrauliques, et les teneurs en sucres et en hormones des UCs porteuses (Réunion)	78
b) Quantification de l'expression de gènes impliqués dans le débourrement (Australie)	79
<b>IV. Résultats</b>	87
1. Caractérisation des coûts de la reproduction chez le manguier	87
A. Caractérisation et quantification de l'irrégularité de production de différents cultivars de manguier	88
B. Identification, caractérisation et quantification des coûts de la reproduction	97
a) ARTICLE 1 – The Costs of Reproduction in Plants: a Novel Approach to Study Irregular Bearing of Fruit Crops. Communication orale publiée dans <i>Acta Horticulturae</i>	98
b) ARTICLE 2 – Effects of Vegetative Growth on Flowering and Fruiting at the Tree, Scaffold Branch and Growth Unit Scales. Implications for Irregular Bearing Studies in Mango. Communication orale publiée dans <i>Acta Horticulturae</i>	107
c) ARTICLE 3 – Deciphering the Costs of Reproduction in Mango – Vegetative Growth Matters. Article publié dans <i>Frontiers in Plant Science</i>	115
2. Identification des mécanismes impliqués dans les coûts de la reproduction	145
A. Effets de la reproduction sur la morphologie, l'anatomie et les caractéristiques hydrauliques de l'axe porteur	146
ARTICLE 4 – Differential Effects of Reproductive and Vegetative Growth on the Anatomy and Hydraulic Traits of Mango Growth Units. Article en révision pour <i>Annals of Botany</i>	147
B. Effets de la reproduction sur le débourrement végétatif – Etude des mécanismes trophiques et hormonaux impliqués dans les coûts retardés de la reproduction	177
a) ARTICLE 5 – Fruit Hormones and Carbohydrates Mobilization Inhibited and Delayed Vegetative Bud Outgrowth in Mango. Article en cours de rédaction, à soumettre à <i>Tree Physiology</i>	178



b) Quantification de l'expression de gènes impliqués dans le débourrement végétatif.....	199
--	-----

## **V. Discussion et Perspectives..... 211**

1. En quoi l'approche des coûts de la reproduction enrichit notre interprétation de l'irrégularité de production ? .....	211
A. Le concept des coûts de la reproduction est-il un bon cadre pour analyser l'irrégularité de production des différents cultivars de manguiers ? .....	211
B. Analyses temporelle et spatiale des coûts de la reproduction.....	212
C. Réflexion sur les notions utilisées dans le cadre des études sur les coûts de la reproduction.....	214
2. De quelle manière les mécanismes étudiés au cours de cette thèse participent-ils aux coûts de la reproduction ?.....	215
A. Les évolutions des teneurs en hormones et en sucres des UCs fructifères sont potentiellement impliquées dans les coûts retardés de la reproduction.....	216
B. Les modifications anatomiques liées à la croissance des fruits peuvent être considérées comme des coûts directs de la reproduction.....	218
C. Effet cultivar.....	219
3. Quelles sont les limites et perspectives scientifiques et agronomiques suite à ces travaux ? .....	221
A. Limites et perspectives de recherche – quelles sont les futures recherches pour approfondir ces travaux sur l'irrégularité de production ? .....	221
B. Perspectives agronomiques – quelles sont les applications agronomiques de nos résultats pour atténuer le phénomène d'irrégularité de production des manguiers ? .....	225

## **Bibliographie..... 231**

Abstract.....	249
---------------	-----

Résumé.....	250
-------------	-----



# **Introduction**



---

# Introduction

---

## 1. Cadre général

Les changements démographiques et écologiques actuels nous amènent à envisager un nouvel enjeu agronomique qui vise à produire plus et mieux, en particulier dans les pays du Sud (FAO, 2015). Investir dans l'agriculture est un des moyens les plus efficaces pour réduire la faim et la pauvreté. De nombreux pays se sont engagés pour atteindre d'ici les 15 prochaines années 17 objectifs de développement durable, qui visent à éradiquer la pauvreté, protéger la planète et garantir la prospérité pour tous (ONU, 2015). L'objectif n°2 consiste à éliminer la faim, améliorer la nutrition et promouvoir l'agriculture durable, dans le but d'assurer la sécurité alimentaire pour toutes les populations. En partenariat avec les gouvernements, le secteur privé et certaines organisations nationales et internationales, la FAO s'efforce d'accroître le volume et l'efficacité des investissements dans l'agriculture.

Les cultures fruitières sont devenues majeures ces dernières années de par leur importance économique et de par leurs qualités nutritionnelles (WHO, 2003 ; FAO, 2015). En complément des rations glucidiques apportées par les céréales, tubercules ou cultures vivrières (FAO, 2015), les fruits apportent des sucres, des fibres, des vitamines, des minéraux, de l'eau, et des antioxydants, permettant de lutter contre les dégâts causés par les radicaux libres naturellement produits par notre organisme (Hercberg *et al.*, 2004). Les effets bénéfiques des fruits sur la santé sont de plus en plus étudiés. Par exemple, une consommation de 25g de fruits par jour serait associée à une diminution de 9% du risque d'accident vasculaire cérébral (Oude Griep, 2011).

La mangue, cinquième production fruitière mondiale derrière les bananes, la pomme, le raisin et les agrumes, est devenue une des principales cultures fruitières des zones tropicales (Galán-Saúco, 2002 ; Mukherjee et Litz, 2009). Elle est originaire du Nord de l'Inde et du Sud-Est asiatique (Bompard, 1989) et son extension actuelle dans une centaine de pays tropicaux et sub-tropicaux à travers les cinq continents montre à quel point cette production est appréciée par les populations. À côté des productions vivrières de base, la culture du manguier représente une source économique (Mukherjee et Litz, 2009) et une source nutritionnelle (WHO, 2003 ; FAO, 2011) importantes pour les populations des pays tropicaux. En effet, la teneur en sucres de la mangue varie de 9 à 16% selon les cultivars. De plus, la mangue contient en proportion importante deux vitamines, la provitamine A et la vitamine C (Joas et Léchaudel, 2009).

Cependant, comme la plupart des espèces fruitières tempérées et tropicales, le manguier est une espèce à production irrégulière, avec un caractère variétal marqué (Chacko, 1986). L'irrégularité interannuelle de production, abrégée par la suite par 'irrégularité de production', est caractérisée par des années de forte production de fruits (années appelées « ON ») alternant plus ou moins régulièrement avec des années de faible production de fruits (années appelées « OFF »). Elle a des retombées économiques marquées pour tous les acteurs de la filière fruitière, depuis l'agriculteur jusqu'au consommateur.

Pour répondre aux objectifs d'amélioration des productions fruitières, en termes de quantité et de qualité (FAO, 2015), les études sur l'irrégularité de production ont connu un regain d'attention

ces dernières années. Malgré des avancées importantes dans la compréhension de l'irrégularité de production, les causes de l'irrégularité de production restent encore largement méconnues (Singh, 1948 ; Hoad, 1978 ; Jonkers, 1979 ; Monselise et Goldschmidt, 1982 ; Lauri *et al.*, 1995 ; Lauri et Laurens, 2005 ; Bangerth, 2006, 2009). Pour aborder le problème de l'irrégularité de production, les auteurs ont tout d'abord cherché à différencier les facteurs qui déclenchent l'irrégularité de production des facteurs qui entretiennent cette irrégularité (Goldschmidt, 2005). Ils ont montré que les facteurs déclenchant l'irrégularité sont principalement des facteurs environnementaux (gel, sécheresse, phénomènes extrêmes, etc.) ou biotiques (forte attaque de bioagresseur) tandis que les facteurs entretenant l'irrégularité sont plutôt des facteurs endogènes, i.e., intrinsèques à l'arbre.

De nombreuses études se sont focalisées sur ces facteurs endogènes responsables de l'entretien de l'irrégularité de production (Goldschmidt, 2005). Elles ont montré que l'irrégularité de production serait liée aux ressources carbonées de l'arbre et/ou à des facteurs hormonaux (Marino et Greene, 1981 ; Monselise et Goldschmidt, 1982). Chez le manguier, des facteurs endogènes de nature architecturale participeraient en partie à l'irrégularité de production. Par exemple, les travaux de Dambreville (2012) suggèrent que les interactions entre reproduction et croissance végétative jouent un rôle dans l'irrégularité de production. Mieux décrypter ces interactions pourrait permettre de mieux comprendre ce phénomène d'irrégularité de production chez les arbres fruitiers tropicaux.

Il apparaît donc important de mieux comprendre les mécanismes qui déclenchent et ceux qui entretiennent l'irrégularité de production afin de proposer des modes de conduite de l'arbre atténuant ce problème pour les cultivars d'intérêts agronomique et économique mais dont la production est irrégulière.

Une nouvelle approche pour étudier l'irrégularité de production pourrait être de mobiliser et de faire référence au concept des coûts de la reproduction, développé en écologie et en biologie évolutive. Les coûts de la reproduction s'intéressent au succès reproducteur d'un individu au cours du temps, et sont définis en termes de perte de futur succès reproducteur potentiel au cycle  $n+1$ , causée par l'investissement, métabolique et/ou démographique, dans la reproduction au cycle  $n$  (Jönsson, 2000 ; Obeso, 2002). Ils peuvent se répartir en deux catégories complémentaires (Obeso, 2002) : les coûts directs et les coûts retardés. Les coûts directs correspondent à l'investissement dans la reproduction au cycle  $n$ , c'est-à-dire aux ressources que l'individu alloue pour la reproduction (floraison et croissance des fruits) pendant le cycle en cours. Les coûts retardés correspondent aux conséquences au cycle  $n+1$  de l'investissement des ressources énergétiques et démographiques dans le processus de reproduction au cycle  $n$ . Ce concept des coûts de la reproduction a été utilisé par de nombreux auteurs en écologie végétale dans le but de caractériser les investissements des plantes dans la reproduction au cours d'années successives, et non pas sur un seul cycle. On peut penser que ce concept des coûts de la reproduction pourrait nous apporter des références et un cadre conceptuel d'analyse et d'interprétation dans l'étude de l'irrégularité de production des espèces fruitières, notamment chez le manguier.

## 2. Objectifs de la thèse

L'objectif principal de cette thèse est d'apporter un regard nouveau sur **l'irrégularité de production du manguier** en **mobilisant le concept des coûts de la reproduction**, et d'identifier des **mécanismes clés** contribuant à cette irrégularité.

Ce travail de thèse a été composé de plusieurs analyses et expérimentations, regroupés sous deux grands objectifs principaux (**Figure 1**) :

1) Identifier, caractériser et quantifier les coûts directs et les coûts retardés de la reproduction du manguier. Pour cela, nous avons travaillé sur différents cultivars, à différentes échelles, et sur plusieurs cycles de production.

2) Identifier, sur la base des résultats précédents, les mécanismes impliqués dans la mise en place des coûts directs et retardés de la reproduction, contribuant à l'irrégularité de production chez le manguier. Les mécanismes considérés sont de nature hydraulique, trophique et/ou hormonale. Nous avons travaillé de manière dynamique et sur différents cultivars.

### **3. Plan du mémoire**

Le chapitre I présente les concepts utilisés dans cette thèse, l'irrégularité de production et les coûts de la reproduction.

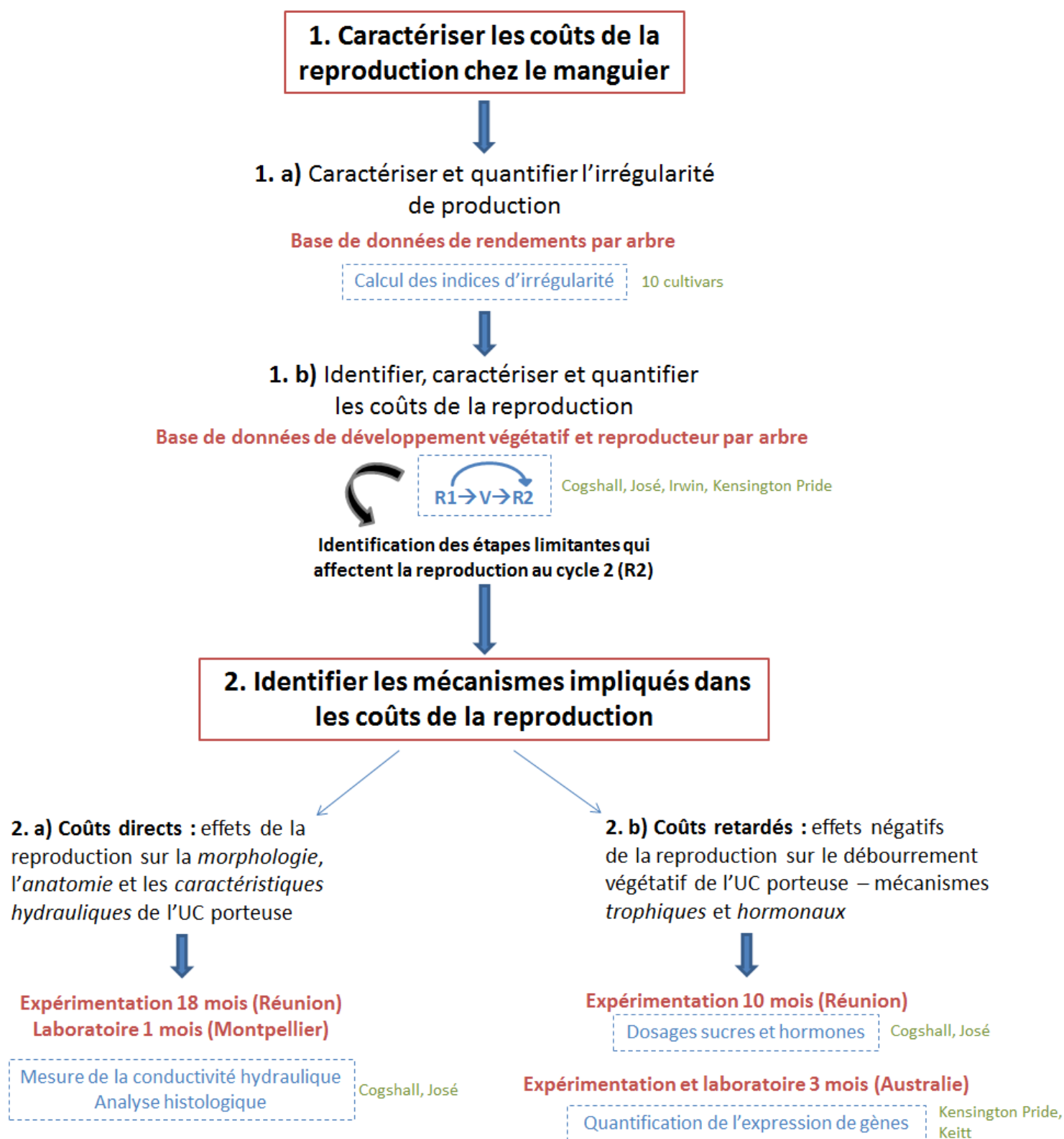
Le chapitre II présente le manguier et sa culture, son développement et sa production à la Réunion, les problèmes liés à sa culture, l'intérêt de l'utiliser comme modèle d'étude, et fait l'état de l'art des études déjà effectuées sur l'irrégularité de production de cette espèce. La problématique et les hypothèses principales avancées dans cette thèse sont ensuite décrites.

Le chapitre III présente les matériels et méthodes utilisés au cours des différentes expérimentations de cette thèse.

Le chapitre IV détaille les résultats obtenus. Ils concernent : 1. La caractérisation et la quantification de l'irrégularité de production de différents cultivars, ainsi que l'identification, la caractérisation et la quantification des coûts de la reproduction ; 2. L'identification des mécanismes impliqués dans les coûts directs ainsi que dans les coûts retardés de la reproduction. Ce chapitre IV est composé de deux articles provenant de communications orales scientifiques à des congrès internationaux, et de quatre publications scientifiques qui sont publiées dans, ou vont être soumis à, des journaux internationaux à comité de lecture.

Le chapitre V correspond à la discussion générale et aux perspectives.

Enfin, la dernière partie du manuscrit correspond à la bibliographie, c'est-à-dire à toutes les références citées dans ce mémoire, hors articles.



**Figure 1** : Schéma de la structure de la thèse. Le texte en noir représente les objectifs, en rouge les moyens mis en œuvre, en bleu les analyses réalisées, et en vert les cultivars utilisés.



## **I. Définitions et Concepts**



# I. Définitions et Concepts

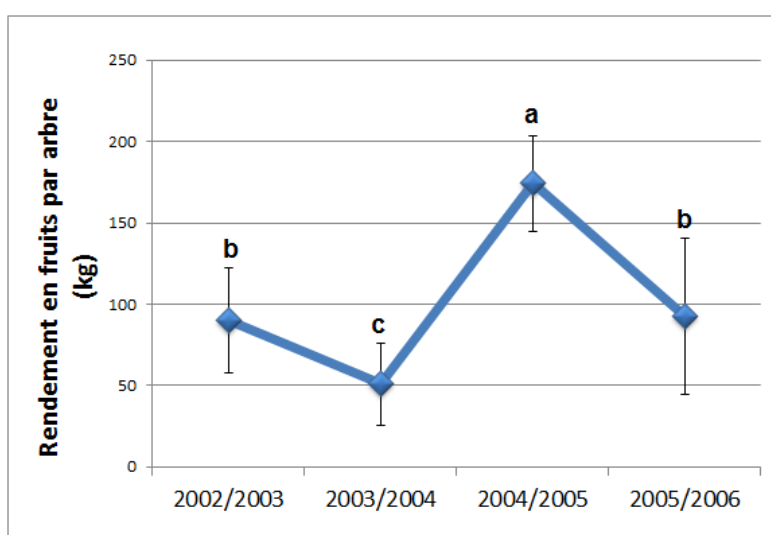
Dans ce chapitre, nous présentons les termes et concepts qui ont été utilisés au cours de cette thèse.

## 1. L'irrégularité de production

### A. Définitions

L'**irrégularité de production** (« irregular bearing » en anglais) correspond à une production de fruits irrégulière d'une année sur l'autre. Elle peut être caractérisée par des années de production moyenne de fruits, des années de forte production de fruits (années appelées « ON ») ou des années de faible production de fruits (années appelées « OFF »). Les années « OFF » sont marquées par un manque de fleurs et/ou de nombreuses chutes de fruits, et par conséquent, une faible fructification. Les années « ON », au contraire, correspondent à une fructification très importante, causée par une floraison abondante et/ou peu de chute de fruits (Monselise et Goldschmidt, 1982).

L'**alternance de production** (« alternate bearing », « alternation » ou « biennial bearing » en anglais) est une forme particulière de l'irrégularité de production pour laquelle le pattern de fructification est bisannuel (Hoad, 1984) (**Figure 2**), c'est-à-dire que la production alterne d'une année sur l'autre : une année de forte production « ON » est suivie d'une année de faible production « OFF » (Pearce et Dobersek-Urbanc, 1967 ; Durand *et al.*, 2013). Lorsque le pattern de fructification est trisannuelle, i.e., une succession de deux années « ON » est suivie d'une année « OFF », ou inversement, on parle d'un comportement régulier d'irrégularité de la production mais qui n'est pas bisannuel.



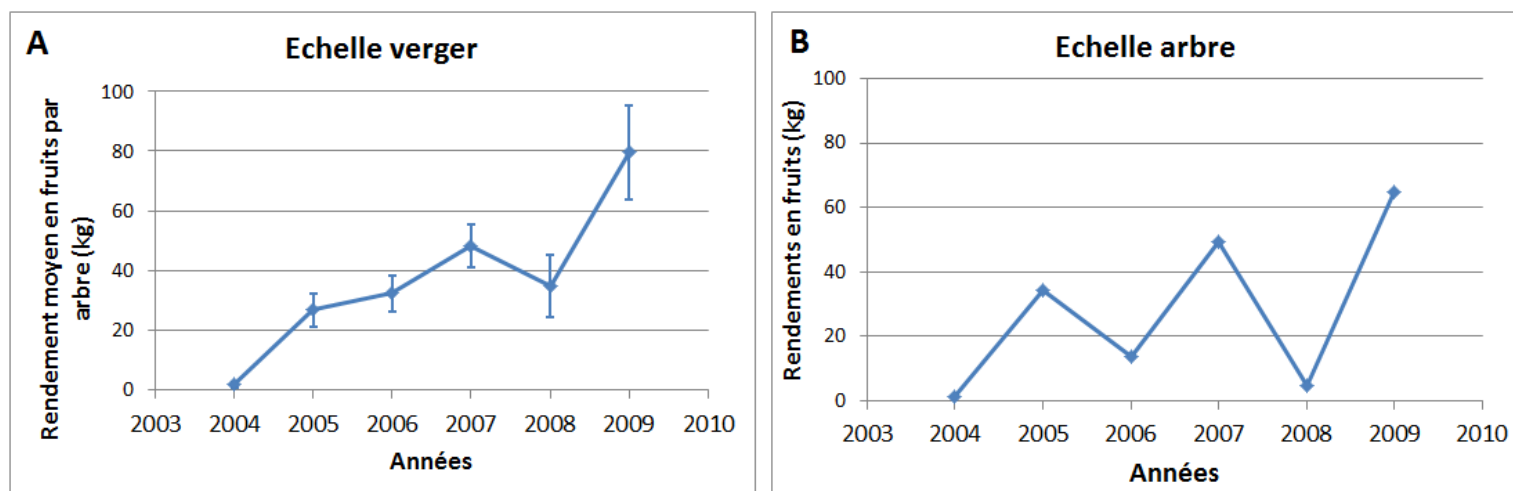
**Figure 2** : Rendement moyen ( $\pm$  écart-type) de manguiers cultivars Cogshall adultes (15-18 ans) à l'échelle du verger sur l'île de la Réunion. Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes (Anova,  $P < 0.05$ ). Données F. Normand, Cirad Réunion.

Dans ce mémoire, nous parlerons principalement d'irrégularité de production, qui est le cas le plus général, sauf cas particulier relatif spécifiquement à l'alternance de production.

Beaucoup d'espèces pérennes tempérées et tropicales sont irrégulières, par exemple le pommier (Jonkers, 1979 ; Guitton *et al.*, 2012), l'olivier (Lavee, 2007), les agrumes (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2011), le pistachier (Rosenstock *et al.*, 2010), l'avocatier (Lovatt, 2010), le pacanier (Conner et Worley, 2010), le litchi (Anupunt et Sukhvibul, 2003) ou encore le manguier (Shivashankara et Mathai, 1995 ; Davenport, 2009). Chez l'olivier par exemple, la production entre une année « ON » et une année « OFF » peut varier à l'échelle du verger de 5 à 30 tonnes/hectare (Lavee, 2007).

L'irrégularité de production peut varier selon l'échelle étudiée : elle peut concerner une large zone géographique, un verger entier, mais également un arbre individuel, une partie d'arbre, ou même seulement une branche, qui va être désynchronisée par rapport au reste de l'arbre (Monselise et Goldschmidt, 1982). Un arbre (ou branche) irrégulier(e) correspond donc à un arbre (ou branche) qui produit une récolte irrégulière d'une année à l'autre.

L'irrégularité de production peut être observée à une échelle, tandis qu'elle peut être masquée à une autre échelle. Par exemple, une production régulière peut être observée à l'échelle du verger (**Figure 3.A**), alors qu'à l'échelle de l'arbre la production est irrégulière (**Figure 3.B**). En effet, tous les arbres du verger ne sont pas forcément dans le même cycle d'irrégularité. Au cours d'une même année, il peut y avoir des arbres à forte production de fruits et des arbres à faible production. Une compensation entre les productions de ces arbres entraîne alors une production plus régulière à l'échelle du verger qu'à l'échelle de l'arbre individuel.



**Figure 3** : Evolution du rendement de manguiers, cultivar Cogshall, (A) à l'échelle du verger (moyenne  $\pm$  écart type de production de 14 arbres) et (B) à l'échelle d'un arbre (F7), au cours des six premières années de fructification à Saint-Pierre sur l'île de la Réunion. Données Cirad.

Ces phénomènes se retrouvent également à des échelles intra-arbre. Des études sur l'irrégularité de production chez le pommier ont été menées à des échelles fines, la branche et la pousse individuelle (Lauri et Laurens, 2005). À l'échelle de la branche, l'irrégularité de production de chaque pousse individuelle peut être masquée par des différences d'irrégularité de production entre les pousses individuelles qui constituent la branche, c'est le phénomène de désynchronisation (Lauri

*et al.*, 1995). Trois types de comportement peuvent alors être observés à l'échelle de la branche et de la pousse (Lauri et Lespinasse, 1999) (**Tableau 1**) :

- Une production régulière à l'échelle de la branche et à l'échelle de la pousse.
- Une production régulière à l'échelle de la branche mais irrégulière à l'échelle de la pousse.
- Une production irrégulière à l'échelle de la branche et à l'échelle de la pousse.

**Tableau 1** : Stratégies théoriques d'irrégularité et de régularité de production à l'échelle de la pousse (chaque colonne représente une pousse observée sur 4 années consécutives) et de la branche (arbitrairement constituée ici de 4 pousses). **F** : fonctionnement fructifère en année n, **V** : fonctionnement végétatif de la pousse en année n. Adapté de Lauri et Laurens (2005).

Production à l'échelle des pousses individuelles		Régulière				Irrégulière				Irrégulière			
Production à l'échelle de la branche		Régulière				Régulière				Irrégulière			
Années	1	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>
	2	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>V</b>	<b>V</b>	<b>V</b>
	3	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>
	4	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>F</b>	<b>V</b>	<b>V</b>	<b>V</b>	<b>V</b>

L'irrégularité de production a des composantes génétiques et environnementales. En effet, il y a des différences marquées entre cultivars dans le caractère plus ou moins régulier de la production, c'est-à-dire que certains cultivars sont relativement réguliers en production, d'autres sont plutôt alternants, tandis que d'autres encore sont très irréguliers (Jonkers, 1979 sur pommier et poirier ; Schaffer *et al.*, 1985 sur agrumes ; Chacko, 1986 sur manguier ; Conner et Worley, 2010 sur noix de pécan). L'irrégularité de production peut être en partie atténuée par la création de cultivars réguliers, mais celle-ci demande du temps et est coûteuse. En plus de varier suivant les espèces ou les cultivars, l'irrégularité de production peut également varier suivant l'environnement. Un cultivar présent dans une zone climatique peut posséder un pattern d'irrégularité différent de celui qu'il a dans une autre zone climatique (Morettini, 1950 ; Monselise et Goldschmidt, 1982 ; Goldschmidt, 2005 ; Lavee, 2007). Par exemple, Kensington Pride, un cultivar de manguier Australien, est très irrégulier dans le Nord de l'Australie, alors qu'il est plus régulier à des latitudes plus hautes (communication personnelle de Ian Bally, QDAFF).

Ce phénomène d'irrégularité est très répandu, se produisant chez les arbres à feuilles caduques comme chez les arbres à feuilles persistantes, sur les arbres cultivés mais également en milieu naturel. Dans ce dernier cas, la forte production une année donnée est appelée « **masting** » (Monselise et Goldschmidt, 1982). « Mast » est un mot anglo-saxon qui se réfère à l'accumulation de différentes sortes de noix sur le sol des forêts (Herrera *et al.*, 1994). L'hypothèse la plus courante sur le masting est que la reproduction sexuelle est coûteuse, les arbres ont besoin d'une à plusieurs années pour reconstituer les ressources nécessaires à la reproduction (Bustan *et al.*, 1995). Le phénomène de masting est donc un processus cyclique, différent du cycle bisannuel. Ce phénomène peut se produire tous les deux à trois ans chez le châtaignier, le noisetier ou l'orme, tous les trois à cinq ans chez le pin et le chêne, tous les cinq à sept ans chez l'épicéa, et tous les 10 à 15 ans chez le

hêtre (Gardner, 1966 ; Monselise et Goldschmidt, 1982). Entre ces événements extrêmes de masting, les arbres ne produisent que peu de graines. Le masting est un phénomène important dans l'écologie des forêts naturelles, puisque la chaîne alimentaire est affectée avec un excès ou un manque de ressources primaires produites par la reproduction des arbres. C'est une des raisons qui fait que ce phénomène est intensivement étudié (Corlett et LaFrankie, 1998 ; Kelly et Sork, 2002 ; Williamson et Ickes, 2002 ; Newbery *et al.*, 2006 ; Norden *et al.*, 2007 ; Tachiki et Iwasa, 2010).

La **domestication** est la modification héréditaire d'êtres vivants par les humains en vue de répondre à leurs besoins. La domestication des espèces pérennes dans un contexte horticole est définie par Kislev *et al.* (2006) comme « *a major positive change in the edibility of a wild, non-palatable fruit brought about by a rare genetic event that would disappear without human intervention* ». Les traits communs à beaucoup de plantes domestiquées sont désignés comme « Syndrome de domestication » (Hammer, 1984 ; Gepts, 2004). Ces traits sont sélectionnés dans le but d'avoir une production plus importante et régulière, et par conséquent de réduire le phénomène de masting présent à l'état sauvage, ainsi que d'améliorer la qualité des fruits/noix (Kislev *et al.*, 2006 ; Goldschmidt, 2013). Des individus à l'état naturel de pacanier (noix de pécan, *Carya illinoensis*) ou de noix de macadamia (*Macadamia tetraphylla* et *M. integrifolia*), possèdent un comportement de masting typique. Lorsqu'elles sont domestiquées, ces espèces continuent d'être irrégulières. Cependant leur domestication peut réduire considérablement ce phénomène de masting (Sparks, 1986 ; Hardner *et al.*, 2009).

La sélection de génotypes réguliers et les pratiques culturales peuvent aider à réduire ce phénomène de masting et d'irrégularité de production. Des pratiques de fertilisation, de taille, d'irrigation ou encore de protection phytosanitaire peuvent favoriser le développement de l'arbre ainsi que sa production et ainsi atténuer l'alternance de production (Amouroux *et al.*, 2009). Cependant, ces pratiques augmentent les coûts de gestion des vergers et peuvent avoir un impact négatif sur l'environnement.

Mais au final, malgré toutes ces pratiques, la plupart des espèces fruitières et des cultivars sont irréguliers en production.

## B. Indices d'irrégularité de production

Pour pouvoir quantifier ces phénomènes d'irrégularité/d'alternance de production chez des arbres cultivés, des indices évaluant la bisannualité, l'intensité, l'amplitude et le synchronisme de l'irrégularité de production ont été proposés.

Depuis 80 ans, les auteurs parlent de manière globale 'd'indices d'alternance de production', ne différenciant pas l'alternance à proprement parler de l'irrégularité de production. Durand *et al.* (2013) ont fait évoluer ces indices pour en lever certaines limites exposées ci-dessous, et pour faire la part des choses entre des productions irrégulières et alternantes.

### a) Estimation de différents indices d'irrégularité de production

Plusieurs paramètres ont été proposés dans la littérature pour estimer et quantifier l'alternance et/ou l'irrégularité de production. Ces indices quantifient la stabilité de production au

cours du temps. Pour pouvoir calculer ces indices, des séries de production, exprimées en poids ou en nombre de fruits, sont donc nécessaires sur plusieurs années consécutives (au moins six années sont préconisées d'après Huff (2001)). Ces données peuvent être récupérées à plusieurs échelles (charpentièrre, arbre, cultivar, verger...) suivant celle à laquelle on s'intéresse.

Hoblyn *et al.* (1936) ont proposé deux indices pour évaluer la bisannualité et l'intensité de l'alternance de production. Le premier indice, **B**, exprime un pourcentage de bisannualité, c'est-à-dire le pourcentage d'inversion entre des tendances de production d'une année sur l'autre à l'augmentation et à la diminution. Par exemple, si la production d'un arbre (en kg) observée sur six années est de :

200, 150, 200, 300, 50, 200

les tendances d'augmentation (+) ou de diminution (-) de la production entre deux années successives au cours de ces 6 années sont :

- + + - +

Trois changements de signe (un signe '+' suivi d'un signe '-', ou inversement) sont observables dans cette série, sur quatre possibilités au total, ce qui donne une valeur de B de  $3/4 = 75\%$ . Une valeur de B = 100% indique donc une production strictement alternante. Cependant, l'indice B ne prend pas en compte les différences de production moyenne chaque année, puisqu'il est calculé à partir de différences de signe, et que l'amplitude de variation est ignorée (Pearce et Dobersek-Urbanc, 1967).

Le second indice, **I**, renommé en 1944 par Wilcox « Biennial Bearing Index » (**BBI**) (soit « l'indice d'alternance de production »), représente l'intensité de déviation du rendement au cours des années successives :

$$BBI = \frac{1}{(n-1)} \sum_{i=2}^n \frac{|Y_i - Y_{i-1}|}{(Y_i + Y_{i-1})}$$

où  $Y_i$  correspond à la  $i^{\text{ème}}$  production observée dans une série ordonnée de productions annuelles de taille  $n$ , et  $|Y_i - Y_{i-1}|$  est la valeur absolue de la différence entre deux années de production successives  $i$  et  $i-1$ . L'indice BBI varie entre 0 et 1 ; BBI=0 correspond à une production régulière, et BBI=1 correspond à un comportement de production strictement alternant, avec une production sur deux égale à 0 (années « OFF »).

D'autres indices ont été proposés pour évaluer l'alternance de production (Monselise et Goldschmidt, 1982 ; Reddy *et al.*, 2003). L'indice **RP**, ou pourcentage relatif, évalue la variation maximale de production durant la période étudiée. Il correspond au rendement minimum, exprimé en pourcentage, du rendement maximum (Morettini, 1950). Cet indice renseigne seulement sur l'amplitude de variation du rendement et non pas sur le pattern de variation. L'indice **SP**, ou pourcentage de synchronisation, correspond au pourcentage d'arbres possédant une tendance de variation de rendement identique entre années successives. Cependant, le BBI reste l'indice le plus souvent utilisé.

Pearce et Dobersek-Urbanc (1967) et Huff (2001) ont mis en évidence certaines limites de BBI. Ils ont analysé les propriétés intrinsèques de BBI dans des cas pratiques, en utilisant des données simulées représentant plusieurs patterns d'irrégularité de production. Ils ont mis en évidence que les

séries simulées de production régulière, mais avec une tendance (par exemple une hausse régulière des rendements au cours du temps) entraînent des valeurs de BBI positives, alors que cet indice aurait dû être nul puisque les productions sont régulières. En conséquence, l'utilisation de l'indice BBI peut mener à confondre l'alternance de production et la tendance à la hausse ou à la baisse sur plusieurs années consécutives. Le BBI convient donc pour des arbres qui ont déjà atteint leur maturité de production, c'est-à-dire dont la production moyenne est stabilisée, et n'est pas adapté à des arbres dont la production présente une tendance au cours du temps, comme lors de l'entrée en production.

Suite aux limites de BBI mises en évidence précédemment, Durand *et al.* (2013) ont proposé de construire d'autres indices d'irrégularité de production, inspirés du BBI, mais en rectifiant les limites du BBI classique. Ils ont tout d'abord construit un BBI\_norm qui correspond au ratio entre la moyenne des différences absolues de production entre les années successives et la production moyenne sur toutes ces années.

$$BBI\_norm = \frac{\sum_{i=2}^n |Y_i - Y_{i-1}| / (n - 1)}{\sum_{i=1}^n Y_i / n}$$

où  $Y_i$  correspond à la  $i^{ème}$  production observée dans une série ordonnée de productions annuelles de taille  $n$ . Ce BBI\_norm permet de normaliser les écarts de productions successives par rapport au rendement moyen, alors que le BBI classiquement calculé ne le fait pas. En effet, dans le BBI classique, chaque différence absolue a un poids différent en fonction de la valeur de cette différence. Cette normalisation rend le BBI\_norm moins sensible à la déviation par rapport à l'hypothèse des résidus alternants, avec des amplitudes à peu près proportionnelles au niveau de tendance correspondant.

Lorsque la production d'un arbre suit une tendance à l'augmentation, par exemple durant les premières années de production d'un arbre, Durand *et al.* (2013) ont modélisé de façon linéaire cette tendance de l'évolution des rendements. Ils ont ensuite quantifié l'irrégularité de production à partir des résidus de l'ajustement « BBI\_res\_norm », c'est-à-dire sur les écarts entre les rendements observés et la tendance ajustée.

$$BBI\_res\_norm = \frac{\sum_{i=2}^n |\hat{\epsilon}_i - \hat{\epsilon}_{i-1}| / (n - 1)}{\sum_{i=1}^n Y_i / n}$$

où  $n$  correspond au nombre de mesures, et  $\hat{\epsilon}_i$  aux résidus de l'ajustement de la tendance au cours de l'année  $i$ . BBI\_res\_norm correspond donc à une normalisation des fluctuations résiduelles par la production moyenne, et a pour rôle de mesurer l'amplitude des variations autour de la tendance de production au cours des années. Cet indice nous permet de savoir si la production est régulière (BBI\_res\_norm faible) ou irrégulière (BBI\_res\_norm élevé) au cours des années.

Si la tendance à l'augmentation de production entre les années successives est faible, BBI\_res\_norm est supposé être une approximation de BBI\_norm.

Cependant, bien que le BBI\_res\_norm soit une mesure de l'irrégularité de production, il ne permet pas de différencier les patterns irréguliers des patterns alternants. Durand *et al.* (2013) ont



donc proposé un coefficient  $\gamma$  qui permet de discriminer les patterns alternants des patterns irréguliers. Ce coefficient  $\gamma$  correspond au coefficient du modèle autorégressif qui caractérise les dépendances entre les rendements, ou les résidus par rapport à la tendance, consécutifs.

$$\varepsilon_i = \gamma(\varepsilon_{i-1}) + u_i$$

où  $\varepsilon_i$  correspond au même résidu que dans le BBI\_res\_norm,  $\gamma$  est le coefficient moyen, et  $u_i$  correspond au résidu au temps  $i$ . Pour un pattern alternant, les rendements successifs ont tendance à être corrélés négativement et l'on s'attend à des valeurs de  $\gamma$  proches de -1. Pour un pattern irrégulier, il n'y a pas de structure particulière de corrélation entre les rendements successifs et on s'attend à des valeurs de  $\gamma$  proches de 0.

En combinant les valeurs de BBI et  $\gamma$ , on définit le pattern de régularité d'un arbre. Les arbres dont la production est irrégulière (variation interannuelle de production marquée sans pattern particulier) ont des valeurs de BBI\_res\_norm élevées et des valeurs de  $\gamma$  proches de 0, et les arbres dont la production est alternante (variation interannuelle de production marquée avec un pattern alternant) ont des valeurs de BBI\_res\_norm élevées et des valeurs de  $\gamma$  proches de -1 (**Tableau 2**).

Un arbre avec une production complètement régulière au cours du temps correspond théoriquement à BBI\_res\_norm=0. Ce qui ne se rencontre jamais. Les valeurs de BBI\_res\_norm faibles traduisent une production régulière, avec cependant de faibles variations interannuelles de production, que l'on peut appeler 'bruit'. Ce bruit peut avoir une structure irrégulière, correspondant à un coefficient  $\gamma$  proche de 0, ou alternante, correspondant à un coefficient  $\gamma$  proche de -1 (**Tableau 2**).

**Tableau 2** : Pattern de production attendu en fonction des valeurs de BBI\_res\_norm et du coefficient  $\gamma$ .

		BBI_res_norm	
		Faible	Élevé
$\gamma$	Proche de 0	Régulier avec bruit irrégulier	Irrégulier
	Proche de -1	Régulier avec bruit alternant	Alternant

#### *b) Utilisation des indices d'irrégularité de production dans la littérature*

Le BBI a été largement utilisé pour étudier l'irrégularité de production à l'échelle du verger, de l'arbre ou de la branche (Wilcox, 1944 ; Singh, 1948 ; Pearce et Dobersek-Urbanc, 1967 ; Jonkers, 1979), sur différentes espèces fruitières, dont le pommier *Malus domestica* (Barrit *et al.*, 1997), le manguier (Reddy *et al.*, 2003), le caféier *Coffea canephora* L. (Cilas *et al.*, 2011), les agrumes (Smith *et al.*, 2004), la noix de pécan (Wood *et al.*, 2004) et le pistachier *Pistacia vera* L. (Rosenstock *et al.*, 2010).

Ces indices d'irrégularité ont été utilisés pour étudier les effets de nombreux facteurs sur l'alternance de production, comme par exemple l'effet du porte-greffe (Barrit *et al.*, 1997 sur pommier ; Stenzel *et al.*, 2003 sur mandarinier *Citrus reticulata* Blanco cultivar 'Ponkan' ; Mourão Filho *et al.*, 2007 sur mandarinier 'Fallglo' et 'Sunburst'), l'effet de la taille des pousses (Wood et Stahmann, 2004 sur noix de pécan) ou des racines (Ferree, 1992 sur pommier 'Jonathan') ou encore l'effet du cultivar (Lauri *et al.*, 1995 sur pommier ; Conner et Worley, 2000 sur noix de pécan).

Reddy *et al.* (2003) ont observé que la régularité de production du manguiier 'Alphonso' au cours des 21 années successives de production est affectée par le porte-greffe : l'alternance la plus forte est observée avec le porte-greffe 'Kurukan' (BBI=0.26) et l'alternance la plus faible avec 'Olour' (BBI=0.38). A l'inverse, Smith *et al.* (2004) n'ont pas trouvé d'effet significatif du porte-greffe sur l'alternance de production mandarinier 'Ellendale' au cours des 26 années successives de production. En revanche, ils ont séparés cette série de 26 années successives en trois périodes de longueur identique, correspondant à des changements de pattern d'irrégularité de production, et ont mis en évidence un faible indice BBI pendant la première période (BBI=0.119), un indice intermédiaire dans la période médiane (BBI=0.260), et un indice élevé dans la dernière période (BBI=0.470), tous porte-greffe confondu. Rosenstock *et al.* (2010) ont quantifié l'alternance de production via l'indice BBI de 4288 pistachiers, cultivar 'Kerman' greffé sur *P. integerrima*, au cours de six années de production. Ils ont montré que le BBI est en moyenne de 0.48 sur le verger. En revanche, il existe un fort effet arbre sur l'irrégularité de production, le BBI variant entre 0.04 et 0.83 entre les arbres.

Les indices d'alternance de production nous permettent de quantifier l'évolution des productions sur plusieurs années, et d'analyser quelles espèces ou quels cultivars sont alternants, irréguliers, ou réguliers. Cependant la compréhension des facteurs influençant l'irrégularité de production est également indispensable pour apporter des solutions à ce problème agronomique.

## C. Facteurs déclenchant et entretenant l'irrégularité de production

Les facteurs qui déclenchent l'irrégularité de production sont de différentes natures que ceux qui entretiennent l'irrégularité (Goldschmidt, 2005). Pour comprendre le phénomène d'irrégularité de production des espèces fruitières, il nous semble utile de distinguer ces facteurs déclenchant, et ces facteurs entretenant l'irrégularité de production des arbres.

### a) Facteurs déclenchant l'irrégularité de production

Différents stress environnementaux et/ou biotiques peuvent déclencher l'irrégularité de production. Ces facteurs peuvent endommager les inflorescences et/ou les fruits, diminuant la production une année. Ils peuvent également endommager les feuilles, affectant l'activité photosynthétique, réduisant la disponibilité des réserves carbonées et diminuant ainsi la floraison et la fructification (Taiz et Zeiger, 2002). Cette diminution de production une année permet à l'arbre d'accumuler des ressources énergétiques, et a pour conséquence l'augmentation de la floraison et potentiellement de la fructification l'année suivante.

- **La température.** Un gel tardif peut abîmer ou détruire les inflorescences de fruitiers tempérés (Williams et Edgerton (1974) sur pommier). Les températures froides mais positives peuvent diminuer la floraison, en abîmant les inflorescences, la fructification, en affectant par exemple l'activité des abeilles qui participent à la pollinisation et à la nouaison, et/ou la production, en provoquant la chute des fruits (Gallasch *et al.*, 1978 sur oranger). Chez beaucoup d'espèces, notamment l'olivier, les agrumes, le manguier, le litchi, l'avocatier et le pacanier, l'induction florale a lieu pendant ou à la fin de l'hiver, sous l'effet de températures fraîches (Wilkie *et al.*, 2008). Il semble y avoir une augmentation des transcrits codant pour les gènes FLOWERING LOCUS T (*FT*), responsables de l'initiation florale, dans les feuilles pendant les mois d'hiver chez ces espèces (Samach et Smith, 2013). Une température trop élevée pendant la saison fraîche peut diminuer la transcription de ces gènes, et par conséquent diminuer la floraison et la production une année (année « OFF »). Chez les espèces tropicales comme le manguier, des températures supérieures à 15°C la nuit et supérieures à 20°C la journée, peuvent induire une initiation de la croissance végétative, empêchant alors l'initiation florale, et par conséquent affectant la production (Ramirez et Davenport, 2010).

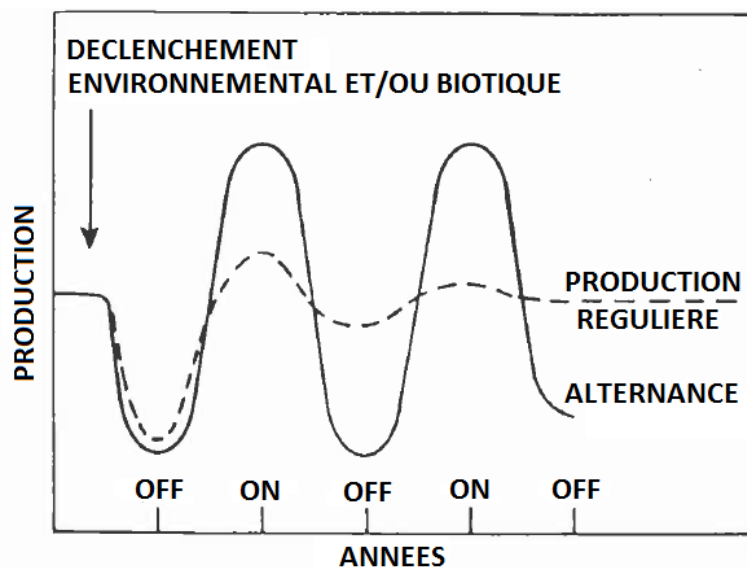
- **La disponibilité en eau.** Un déficit hydrique juste au moment de la floraison peut affecter l'ouverture des fleurs chez le caféier (*Coffea arabica* L.) (Crisosto *et al.*, 1992), et, après la floraison, il peut réduire de 50% la production de raisin chez la vigne (*Vitis vinifera* L.) (McCarthy, 1997). De plus, un déficit hydrique juste après la mise en place des feuilles peut stimuler leur senescence et causer éventuellement leur chute, affectant la photosynthèse, et pouvant ainsi réduire la disponibilité des réserves carbonées ainsi que l'aptitude de l'arbre à fleurir et fructifier (Taiz et Zeiger, 2002). En cas de stress hydrique, la plante produit de l'acide abscissique qui induit une chute importante de feuilles, affectant alors l'activité photosynthétique de l'arbre, et par conséquent la floraison et la croissance des fruits suivantes (Davies, 2010). La faible humidité de l'air au moment de la floraison peut entraîner une dessiccation des stigmates et peut par la suite diminuer la germination du pollen et donc affecter la fructification (Gardner, 1966 sur avocatier ; Moss, 1969 ; Valiente et Albrigo, 2004). Au moment de la croissance des fruits, la faible humidité de l'air peut accroître la chute des fruits (Chandler, 1950 sur olivier).

- **Les phénomènes extrêmes**, i.e., une sécheresse extrême, des pluies diluviennes, ou encore des cyclones ou ouragans, qui peuvent conduire à une perte de la floraison et/ou de la production.

- **Des ravageurs et des maladies** peuvent affecter les inflorescences, les fruits et les feuilles, diminuant ainsi la production ou affectant l'activité photosynthétique au cours d'une année. Par exemple la cécidomyie des fleurs (*Procontarinia mangiferae*) est un petit diptère qui pond sur les inflorescences de manguier. Les larves se développent à l'intérieur des inflorescences, pouvant entraîner la destruction partielle ou totale des inflorescences (Amouroux *et al.*, 2009). Chez l'avocatier ou le manguier, l'anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) affecte les inflorescences et les feuilles en les nécrosant, et provoque une pourriture des fruits par le pédoncule entraînant leur chute prématuré (Kohler et Pellegrin, 1992 ; Amouroux *et al.*, 2009).

Le déclenchement de l'irrégularité de production par les facteurs environnementaux et/ou biotiques peut affecter tous les cultivars d'une espèce donnée, qu'ils soient réguliers ou non. Cependant, les cultivars ne vont pas réagir de la même manière au cours du temps (**Figure 4**). Les

cultivars réguliers vont rapidement retrouver leur équilibre et régularité de production. En revanche, les cultivars irréguliers vont maintenir cette irrégularité. Un nouvel épisode environnemental et/ou biotique peut ensuite déclencher un nouveau cycle d'irrégularité de production (Monselise et Goldschmidt, 1982).



**Figure 4** : Différences schématiques dans la production de cultivars réguliers et alternants réagissant à un facteur environnemental ou biotique déclencheur. Les traits pleins correspondent à une production alternante au cours du temps tandis que les traits en pointillé correspondent à une production régulière. Adaptée de Monselise et Goldschmidt (1982).

#### *b) Facteurs entretenant l'irrégularité de production*

L'irrégularité de production est principalement entretenue par des facteurs endogènes, c'est-à-dire intrinsèques à l'arbre. De nombreuses études sur ces facteurs endogènes mettent en évidence le fait que l'irrégularité serait liée à des facteurs hormonaux (Marino et Greene, 1981 ; Samach et Smith, 2013), aux ressources carbonées de l'arbre (Monselise et Goldschmidt, 1982 ; Smith et Samach, 2013), à des facteurs architecturaux (Normand *et al.*, 2009 ; Dambreville *et al.*, 2013) et/ou à des facteurs génétiques (Samach et Smith, 2013 ; Smith et Samach, 2013).

Une forte production une année peut entraîner, via les facteurs cités ci-dessus, une floraison et/ou une fructification réduite(s) l'année suivante, le tout modulé par des facteurs génétiques. Ces facteurs peuvent avoir des effets directs sur l'irrégularité de production, i.e., ils peuvent affecter la floraison ou la fructification diminuant ainsi la production une année, mais peuvent également avoir des effets indirects sur la production, par exemple en affectant la croissance végétative, potentiellement porteuse de la future floraison et fructification.

- **Les facteurs hormonaux** : Les phytohormones, des substances produites par les plantes permettant de réguler leur croissance et développement, sont souvent étudiées dans le cadre des travaux sur l'irrégularité de production (Luckwill, 1974). Certaines de ces hormones sont présentées et décrites dans l'**Encart 1**, et leurs abréviations seront utilisées par la suite.

Effets directs : Les graines à l'intérieure des fruits sont connues pour contenir de l'auxine (AIA), des gibbérellines (GAs) et des cytokinines (CKs), des hormones qui jouent un rôle dans l'induction florale. Chez des espèces tempérées comme le pommier, l'induction florale a lieu en même temps que la croissance des fruits. Certaines GAs sécrétées par les graines peuvent inhiber l'induction florale sur les axes à proximité des fruits (Chan et Cain, 1967 ; Moss, 1969 ; Luckwill, 1974 ; Wilkie *et al.*, 2008), ce qui affecte la floraison et la production l'année suivante.

Effets indirects : Les hormones produites par les organes reproducteurs, inflorescences et/ou fruits, peuvent affecter le débourrement végétatif. Le flux basipète d'AIA produit par les fruits en croissance affecte négativement le débourrement végétatif en maintenant un haut niveau d'AIA et de SLs dans l'axe porteur, et en inhibant la biosynthèse des CKs (Tanaka *et al.*, 2006 ; Gomez-Roldan *et al.*, 2008 ; Umehara *et al.*, 2008 ; Ferguson et Beveridge, 2009 ; Waldie *et al.*, 2010 ; Smith et Samach, 2013). Il y a alors moins de croissance végétative pour porter la floraison et production suivante. L'accumulation d'ABA dans les fruits matures serait également responsable de l'effet négatif des fruits sur le développement des bourgeons latéraux (Goldschmidt *et al.*, 1973 ; Tamas *et al.*, 1979).

#### **Encart 1 : rôles des différentes phytohormones (Davies, 2010)**

L'**auxine**, l'acide indole 3-acétique (AIA), synthétisée principalement dans les jeunes feuilles, les inflorescences et les fruits (particulièrement les graines) en développement, joue un rôle majeur dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes. Son action dépend fortement à la fois de sa concentration mais également du tissu sur lequel elle agit. Par exemple, une même concentration d'AIA peut inhiber le développement d'un bourgeon alors qu'elle favorise l'élongation d'une tige. A forte concentration, le flux basipète d'AIA a un effet inhibiteur sur le débourrement des bourgeons axillaires.

Les **gibbérellines** (GAs), dont le composé actif est appelé l'acide gibbérellique (noté GA3), sont synthétisées dans les jeunes tissus des pousses et dans les graines en développement, et stimulent la croissance des tiges, l'induction de la germination des graines, la production d'enzymes pendant la germination, la nouaison et la croissance des fruits. Il y a plus de 100 GAs, avec des propriétés, des rôles et des effets différents, parfois même totalement opposés. La GA1 est la première GA active et est responsable principalement de l'élongation de la tige.

Les **cytokinines** (CKs) sont des substances proches des bases puriques, et sont divisées en deux types : les cytokinines de type adénine, représenté par la kinétine ou la zéatine, et les cytokinines de type phenylurea (Aina *et al.*, 2012). Elles sont synthétisées au niveau de l'apex racinaire, des graines en développement et dans les axes. Elles sont transportées de manière acropète via le xylème jusqu'aux parties en croissance des pousses. Les CKs stimulent la croissance des bourgeons latéraux, permettent l'expansion des feuilles, la production de chlorophylle, la croissance cellulaire et la formation de jeunes pousses. En présence de faible teneur en AIA, les CKs ont la faculté d'induire la division cellulaire et permettent le débourrement végétatif des bourgeons (Sakakibara, 2010).

L'**acide abscissique** (ABA) est synthétisé à l'intérieur des plastides des racines et des feuilles matures. Les graines sont riches en ABA, qui peut être importé depuis les feuilles ou synthétisé in situ. L'ABA possède plusieurs rôles, dont celui d'induire la dormance et d'inhiber la germination, de

prolonger la dormance des graines, et d'arrêter la croissance des bourgeons ayant démarré. L'ABA joue également un rôle dans la défense contre différents stress, notamment hydrique (fermeture des stomates), dans la senescence des feuilles et dans l'inhibition de la croissance végétative.

L'**acide jasmonique** (AJ), du groupe des Jasmonates qui sont des dérivés de cyclopentanones issus de la voie de biosynthèse des acides gras, joue un rôle dans la régulation du fonctionnement cellulaire et le développement de la plante. L'AJ a été trouvé dans tous les organes de la plante avec des taux élevés au niveau des fleurs et des jeunes tissus du péricarpe du fruit. L'AJ inhibe la croissance végétative et la germination des graines non dormantes, stimule la germination des graines dormantes levant ainsi la dormance, et stimule le mûrissement des fruits (via l'éthylène). Il joue également un rôle dans la résistance aux insectes et ravageurs.

Les **strigolactones** (SLs), appelés aussi hormones de ramification, ont d'abord été identifiées comme des indicateurs de germination des graines de plantes parasites. Les chercheurs ont ensuite mis en évidence leur mobilité et leur faculté à agir à longue distance, entre leur lieu de synthèse et leur lieu d'action, pour inhiber le débourrement des bourgeons axillaires préformés, même à faible concentration. Les SLs sont synthétisées à très faible dose dans les racines et à encore plus faible dose dans certaines parties de la tige, puis migrent vers les pousses par le xylème (Waldie, 2014).

- **Les facteurs carbonés et minéraux** : Les études sur l'irrégularité de production considèrent également les facteurs carbonés et minéraux pour comprendre l'entretien de cette irrégularité. Le carbone, l'azote, le potassium, le calcium et le magnésium sont des éléments nutritifs nécessaires à la nutrition des plantes et à la croissance des fruits (Raven *et al.*, 1961 ; Léchaudel *et al.*, 2005). Une production élevée de fruits engendre une mobilisation importante de ces éléments nutritifs, principalement en carbone et minéraux, pour la croissance des fruits. Cette mobilisation génère alors un épuisement des réserves, et une diminution de la croissance végétative, dépendante elle aussi de ces réserves nutritives. De plus, la reconstitution de réserves n'est pas suffisante pour la floraison suivante, diminuant ainsi la floraison et la production suivante.

Effets directs : Durant les années « ON », la croissance de nombreux fruits, qui sont des puits importants pour le carbone (Geiger, 1976), cause l'épuisement des réserves en glucides de l'arbre. La floraison et la fructification, processus coûteux en carbone et en minéraux, peuvent alors être affectées négativement l'année suivante (année « OFF ») par l'épuisement des réserves carbonées et minérales de l'arbre (Hansen, 1969 ; Sachs, 1977 ; Goldschmidt, 1999 ; Wilkie *et al.*, 2008). Un effet positif des glucides sur la floraison et la fructification est suspecté (Goldschmidt, 1999). Il est alors possible qu'une diminution des glucides engendre une diminution de la floraison.

Effets indirects : Une production élevée de fruits peut créer également des déficiences en éléments en glucides et en minéraux à cause de la mobilisation des réserves de l'arbre pour les fruits. Ces déficiences apparaissent en premier chez les feuilles, les branches puis les jeunes racines, le tronc et les racines lignifiées (Goldschmidt et Golomb, 1982). Les éléments nutritifs, mobilisés préférentiellement vers le fruit en croissance, ne seront alors plus disponibles pour la croissance végétative, ce qui peut affecter la floraison et la fructification au cycle suivant (Akao *et al.*, 1981 ; Monselise et Goldschmidt, 1982 ; Goldschmidt, 1999).

- **Les facteurs architecturaux** : Les études sur l'irrégularité de production se sont également intéressées aux facteurs architecturaux pour comprendre l'effet négatif d'une forte production sur la

floraison et la fructification l'année suivante (Lauri et Laurens, 2005 ; Costes *et al.*, 2006 ; Lauri *et al.*, 2006 ; Barthélémy et Caraglio, 2007 ; Lauri *et al.*, 2008a).

Certains facteurs morphologiques, comme le nombre, les dimensions ou la topologie des pousses peuvent affecter la croissance végétative, la floraison et la fructification suivante. Chez l'avocatier, les fortes productions de fruits, ainsi que le nombre de pousses reproductrices une année, affectent négativement la croissance des pousses végétative d'été, qui sont responsables d'une floraison et d'une production importante au cycle suivant (Lovatt, 2010). La nature reproductrice d'une pousse au cours d'un cycle retarde la date de floraison au cycle suivant (Dambreville *et al.*, 2013 sur manguier). Cependant, une floraison tardive peut être affectée par les conditions climatiques qui peuvent ne plus être optimales, et/ou par les bioagresseurs, affectant ainsi la fructification. De plus, le débourrement d'une pousse ayant porté un fruit est plus tardif que sur une pousse restée quiescente (Dambreville *et al.*, 2013). Les nouvelles pousses tardives peuvent ne pas avoir le temps d'atteindre leur maturation avant la floraison, et pourront alors ne pas fleurir. Chez le manguier les pousses apicales, i.e., issues du méristème apical, ont tendance à fleurir, fructifier, et se ramifier plus que les pousses latérales, i.e., issues du méristème latéral (Normand *et al.*, 2009). Or une année de forte fructification, la grande majorité des bourgeons apicaux se transforment en inflorescences, ne laissant disponibles que des bourgeons latéraux, qui ont une probabilité de débourrement plus faible. Cette forte fructification affecte alors la croissance végétative suivante, porteuse de la future floraison. La forte production une année affecte la vigueur de l'arbre sur le long terme, puisqu'elle réduit la croissance cumulée au cours des années, affectant la fructification et induisant alors l'alternance de production des arbres (Regnard *et al.*, 2002 ; Costes *et al.*, 2006).

- **Les facteurs génétiques** : Guitton *et al.* (2012) ont étudié les déterminants génétiques de l'alternance de production en recherchant des locus de caractères quantitatifs (QTL pour quantitative trait loci). Un QTL représente une région plus ou moins grande d'ADN qui est étroitement associée à un caractère quantitatif (l'alternance de production dans ce cas), c'est-à-dire une région chromosomique où sont localisés un ou plusieurs gènes à l'origine du caractère en question. Ils ont montré que trois QTLs expliquent 50% de la variabilité phénotypique pour l'alternance de production du pommier. Plusieurs gènes impliqués dans la biosynthèse des GAs sont localisés dans les QTLs liés à l'alternance de production, alors que les gènes clés responsables de la floraison (*FT* et *TFL1*) ne sont pas présents à l'intérieur de ces QTLs. Ces résultats indiquent que l'alternance production est probablement plus influencée et contrôlée par les gènes liés aux hormones que par les gènes de floraison. D'autres études ont mis en évidence que les QTLs liés à l'intensité de ramification sont localisés proche des QTLs lié à l'alternance de production (Segura *et al.*, 2009).

- **Les mécanismes moléculaires** : Puisque l'irrégularité de production est en partie liée à l'induction florale, les gènes liés à la floraison, comme les gènes *FT* (FLOWERING LOCUS T) et *TFL1* (TERMINAL FLOWER 1), pourraient être impliqués dans ce phénomène.

Effets directs : Ces gènes ont d'abord été identifiés comme affectant l'induction florale chez *Arabidopsis thaliana* (Bernier et Périlleux, 2005 ; Tan et Swain, 2006 ; Corbesier *et al.*, 2007). Chez *Arabidopsis*, le gène *FT* favorise l'induction florale dans les méristèmes (Tamaki *et al.*, 2007) alors que le gène *TFL1* l'inhibe (Ratcliffe *et al.*, 1999). L'effet des fruits sur l'expression des gènes responsables de la floraison a également été étudié chez plusieurs espèces, dont le pommier, le manguier et les agrumes (Samach et Smith 2013). Chez le pommier, les niveaux d'expression du gène *TFL1* sont significativement plus importants dans les bourgeons apicaux des arbres très chargés en fruits que

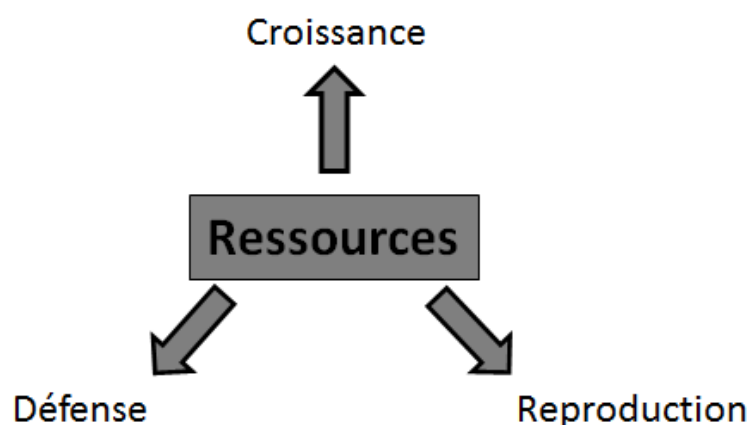
dans ceux des arbres non-chargés, inhibant ainsi la floraison suivante (Kittikorn *et al.*, 2011 ). De plus, les niveaux d'expression du gène *FT* sont plus faibles dans les bourgeons apicaux des arbres très chargés que dans ceux des arbres non-chargés (Kittikorn *et al.*, 2011 ; Samach et Smith, 2013). Chez les agrumes, ainsi que chez l'avocatier, il semble que la charge en fruits une année « ON » inhibe l'induction florale responsable de la floraison l'année suivante en réprimant certains gènes de floraison (*FT* et *SOC1*, MADS-box TFs SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1) présents dans les feuilles (Munoz-Fambuena *et al.*, 2011 ; Ziv *et al.*, 2014). Ces résultats suggèrent un lien entre l'augmentation de l'expression de *FT* à la fin de l'automne et l'induction florale pour l'année suivante.

Effets indirects : Tanaka *et al.* (2006) ont montré que l'AIA, produit par les fruits, affecte négativement le débourrement végétatif en réprimant le gène *IPT* (*ADENOSINE PHOSPHATE-ISOPENTENYLTRANSFERASE*) responsable de la biosynthèse des CKs. Une forte production de fruit engendre un flux d'AIA important, inhibant la synthèse des CKs, et par conséquent le débourrement végétatif.

## 2. Les coûts de la reproduction

### A. Définitions

Tous les individus sont soumis à trois grandes fonctions principales qui leur permettent de se développer : la croissance, la défense et la reproduction. Le **principe d'Allocation des ressources** (« Principle of Allocation » ; Levins, 1968) est défini par l'investissement en ressources dans une de ces trois grandes fonctions, engendrant une diminution des ressources et une perte de potentiel d'investissement pour les autres fonctions (Stearns, 1992 ; **Figure 5**). Des compromis, ou « **trade-offs** » évolutifs, dans l'allocation des ressources sont alors nécessaires entre les différentes fonctions (Reznick, 1985).



**Figure 5** : Principe d'allocation des ressources (Levins, 1968) entre trois grandes fonctions d'un individu : la croissance, la défense et la reproduction.

Pour qu'un individu dispose d'un succès reproducteur important, des compromis dans l'allocation des ressources doivent avoir lieu entre les différentes fonctions, puisque toutes les



fonctions ne peuvent pas être à leur optimum au même moment (Reznick, 1985). Ces compromis correspondent à des **coûts de la reproduction**, qui sont définis en termes de perte de futur succès reproducteur potentiel au cycle  $n+1$ , causée par l'investissement, métabolique et/ou démographique, dans la reproduction au cycle  $n$  (Jönsson, 2000 ; Obeso, 2002 ; Reekie et Bazzaz, 2005). L'objectif est de maximiser le succès reproducteur sur l'ensemble de la vie de la plante, et non pas sur un seul cycle.

Les coûts de la reproduction chez les plantes peuvent se répartir en deux catégories complémentaires (Obeso, 2002) :

- Les **coûts directs** de la reproduction correspondent à l'investissement dans la reproduction au cycle  $n$ , c'est-à-dire aux ressources que l'individu alloue pour sa reproduction (floraison et croissance des fruits) (Newell, 1991). Ces investissements peuvent être métaboliques, i.e., carbonés ou énergétiques, et/ou démographiques, i.e., à travers le nombre de bourgeons se transformant en inflorescence puis en fruit. Ces coûts peuvent être identifiés par exemple via la quantité d'énergie investie dans la reproduction (i.e., la production de nectar et/ou de graines ; Galen *et al.*, 1993), ou via l'investissement des ressources en carbone et en azote associés à la croissance des fruits (Léchaudel *et al.*, 2005 ; Daniels *et al.*, 2013).

- Les **coûts retardés** de la reproduction peuvent être examinés à court terme ou à long terme (Obeso, 2002). A court terme, les coûts retardés de la reproduction correspondent aux conséquences négatives, en termes de croissance végétative et reproduction, au cycle  $n+1$  de l'investissement des ressources dans le processus de reproduction au cycle  $n$  (Newell, 1991). Ces investissements peuvent être métaboliques, i.e., l'énergie investie dans la reproduction, et/ou démographiques, comme par exemple le nombre de bourgeons disponibles. Plus le nombre de bourgeons investis dans la floraison au cycle  $n$  est élevé, plus le nombre de bourgeons restant végétatifs pour la croissance végétative (potentiellement porteuse de la future floraison) au cours du cycle  $n+1$  est faible (Pellerin *et al.*, 2011 ; Dambreville *et al.*, 2013). A long terme, ces coûts sont généralement étudiés à l'échelle d'une population, via une quantification du taux de mortalité des populations et/ou taux de croissance des populations sur plusieurs saisons.

## B. Historique

L'idée que la reproduction d'un individu entre en compétition avec ses autres fonctions est aussi ancienne que l'histoire naturelle elle-même (Jönsson et Tuomi, 1994). C'est au cours de l'Antiquité que les Hommes ont compris que la reproduction des individus entraîne des conséquences négatives sur leurs performances (Jönsson et Tuomi, 1994). En revanche, ce n'est qu'à partir du 19<sup>ème</sup> siècle que l'idée que la reproduction implique un investissement dans des ressources énergétiques a été émise (Mattiolo, 1899).

C'est avec Fisher (1930) et son livre 'The genetical theory of natural selection' (« la théorie génétique de la sélection naturelle ») que les recherches sur les stratégies de reproduction en lien avec l'utilisation des ressources de l'individu et du milieu ont débuté. Les études corrélant négativement la taille des pontes des oiseaux et les ressources du milieu (Cody, 1966 ; Williams, 1966) sont les premières à avancer les hypothèses du « Principe d'allocation » (défini par Levins en 1968) et de « l'effort reproductif ».

Le premier article concernant l'investissement dans la reproduction des espèces végétales a été rédigé par Salisbury en 1942. Il a examiné une large partie de la flore britannique, et a révélé un trade-off, une relation négative, entre la taille et le nombre des graines. Plus une plante produit de graines, i.e., s'investit dans la reproduction, plus ces graines sont de petite taille. Le premier article faisant le lien entre l'économie des ressources et les grandes fonctions des plantes a été écrit par Harper et Ogden (1970). Ils ont étudié la répartition de la biomasse de *Senecio vulgaris* sous différents niveaux de stress (faible, moyen et élevé) liés à la taille des pots dans lesquels se sont développées les plantes. Ils ont montré, entre autre, que les plantes confrontées à des niveaux de stress faible et moyen développent plus de biomasse dans les racines et les tiges que les plantes à niveau de stress élevé, qui restent sous forme de rosettes. L'effort reproductif, i.e., la biomasse des graines par rapport à la biomasse totale, des plantes sous stress faible et moyen est de 21% en comparaison de l'effort reproductif des plantes à niveau de stress élevé qui n'est que de 3%.

Par la suite, un grand nombre d'études sur l'effort reproductif des plantes a été publié. Harper (1977) a compilé plusieurs études concernant l'écologie de la reproduction et en a conclu que les plantes pérennes polycarpiques montrent souvent une corrélation négative entre la production de graines et/ou de fruits et la croissance végétative. Il a en revanche montré une relation positive entre la croissance végétative et la reproduction. Ces résultats suggèrent que les activités reproductives et végétatives sont, en partie du moins, compétitrices. Si la reproduction n'engendrait pas de coûts, en termes de futur succès reproducteur ou de survie, un organisme pourrait commencer à se reproduire très tôt au cours de son ontogénèse (Roff, 1992). Néanmoins, la plupart des plantes ont besoin d'acquérir une taille minimale pour se reproduire, ce qui suggère que les coûts de la reproduction existent. Une des questions qui est cependant souvent discutée est de savoir si la taille minimale nécessaire à la reproduction est un reflet des coûts de la reproduction, ou au contraire un reflet de certaines relations allométriques (Karlsson et Méndez, 2005).

## C. Détection des coûts de la reproduction et les problèmes liés

Les coûts de la reproduction peuvent être détectés via des corrélations, ou encore via des manipulations (Reznick, 1985).

Des corrélations phénotypiques, i.e., des corrélations entre un caractère observable chez un individu, et un coût potentiel, peuvent être étudiées, par exemple entre la taille d'une plante (caractère observable) et le nombre de graines (coût) qu'elle produit. L'investissement d'une plante dans la reproduction, en nombre de graines, entraîne une plus faible croissance végétative (Harper, 1977).

Des manipulations expérimentales peuvent être également être réalisées dans le but de détecter des coûts de la reproduction. Ces manipulations correspondent à la modification physique de certains traits ayant pour objectif de maximiser ou de minimiser l'effort reproductif et donc les coûts de la reproduction. Sur les espèces monoïques et gynodioïques, certaines expérimentations permettent d'augmenter ou de diminuer la reproduction. Par exemple une pollinisation à la main est une méthode permettant d'augmenter la reproduction (Primack et Hall, 1990 ; Delph et Meagher, 1995 ; Ramsey, 1997) alors que le retrait de bourgeons, d'inflorescences et/ou de fruits la diminuent (Ashman, 1992 ; Euler *et al.*, 2012 ; Toivonen et Mutikainen, 2012 ; Sletvold et Ågren, 2015). L'annélation (Newell, 1991), qui consiste à priver une branche des ressources carbonées issues du reste de la plante (sève élaborée) en supprimant le phloème limite les ressources disponibles, et peut

affecter négativement la reproduction. La manipulation de l'environnement peut également être réalisée pour modifier les coûts de la reproduction, par exemple en modifiant l'ombrage, les températures ou la disponibilité en eau (stress hydrique) des plantes, ou encore en augmentant la pression (herbivores, ravageurs...), pouvant affecter la survie des plantes (Horvitz et Schemske, 2002).

Un des problèmes pour estimer les coûts de la reproduction est qu'il peut exister des mécanismes de compensation qui peuvent masquer ces coûts de la reproduction (Tuomi *et al.*, 1983). Ces mécanismes sont de différentes natures (Obeso, 2002) :

- La photosynthèse des feuilles peut être stimulée par les fruits présents à proximité (Urban *et al.*, 2004) apportant ainsi des ressources carbonées supplémentaires (Gifford et Evans, 1981) qui compensent en partie les coûts de la reproduction.

- Les structures reproductives (fleurs et fruits) peuvent contribuer à leur alimentation en carbone par leur propre photosynthèse (Watson et Casper, 1984), ce qui permet de compenser en partie les coûts de reproduction. Cependant, chez la tomate, des études ont montré que la quantité de carbone produite par l'activité photosynthétique du fruit est négligeable en comparaison de celle nécessaire à la respiration et la croissance (Carrara *et al.*, 2001 ; Lytovchenko *et al.*, 2011).

- La croissance végétative et la reproduction chez certaines espèces peuvent être limitées par la disponibilité des méristèmes (Bazzaz et Ackerly, 1992). Après la reproduction, lorsque les fruits ne sont plus présents sur l'arbre, l'effet inhibiteur du fruit sur le débourrement des bourgeons via le flux basipète d'auxine disparaît (Waldie *et al.*, 2010 ; Domagalska et Leyser, 2011 ; Smith et Samach, 2013). Il y a alors suppression du contrôle apical, défini par Wilson (2000) comme l'inhibition du débourrement des bourgeons latéraux par le bourgeon apical, et possibilité de débourrement des bourgeons latéraux. En se développant, ces bourgeons latéraux donnent de nombreuses nouvelles pousses, ce qui participe à augmenter le nombre de structures d'acquisition de carbone, grâce aux feuilles formées, et ainsi compenser les coûts de reproduction en termes de carbone.

- La distribution dans le temps de l'investissement dans la croissance et dans la reproduction peut jouer sur la compétition pour les ressources. Une reproduction précoce au cours d'un cycle entraîne un décalage des phases phénologiques dans le temps, et permet d'éviter un croisement entre les phases de reproduction et les phases de croissance végétative (Dambreville *et al.*, 2013). Ce décalage de phase diminue ainsi la compétition pour les ressources entre reproduction et croissance végétative. La reproduction au cycle suivant ne sera alors pas affectée.

- L'échelle étudiée peut modifier la détection des coûts de la reproduction (Obeso, 1997, 2002, 2004). Les coûts de la reproduction observés à des échelles fines, par exemple à l'échelle de la pousse, peuvent ne pas être observés à des échelles plus élevées, par exemple à l'échelle de la branche, à cause d'une compensation des coûts entre les pousses reproductives et les pousses non-reproductives (Obeso, 2002).

- Les difficultés pour estimer les coûts de la reproduction à différentes échelles peuvent également être relatives à l'autonomie des branches. En effet, si les branches ont une certaine autonomie en termes de ressources notamment carbonées (Sprugel, 1991), les coûts de la reproduction peuvent être détectés à l'échelle de la branche puisqu'il n'y aura pas de transferts de ressources entre les branches reproductrices, qui ont utilisées leurs ressources pour produire des fruits, et les branches non-reproductrices, qui n'ont pratiquement pas utilisées leurs ressources. En revanche, si les branches ne sont que partiellement autonomes, les coûts de reproduction peuvent

ne pas être détectés au niveau de la branche suite à des transferts de ressources entre les branches (Henriksson et Ruohomäki, 2000 ; Bañuelos, 2001).

Au-delà des difficultés méthodologiques et du fait que le concept des coûts de la reproduction est principalement descriptif, l'intérêt de ces études réside dans les possibilités de lier la physiologie à la démographie et à l'évolution des plantes (Obeso, 2002).

## D. Exemples d'étude des coûts de la reproduction chez des espèces sauvages

Les recherches sur les coûts de la reproduction sont diverses et peuvent être abordées de plusieurs manières.

Les coûts de la reproduction peuvent être étudiés entre les individus mâles et les individus femelles chez les espèces dioïques. Ces espèces fournissent une excellente opportunité pour examiner les coûts de la reproduction et leurs effets sur la croissance végétative car elles constituent un matériel végétal unique permettant d'explorer, sans manipulations, les différences d'allocations de ressources à la reproduction d'un individu (Obeso, 2002). En effet, les individus femelles dépensent en général proportionnellement plus de leurs ressources dans la reproduction et moins dans la survie et la croissance que les individus mâles (Lloyd et Webb, 1977 ; Delph, 1999 ; Nicotra, 1999 sur *Siparuna grandiflora*). Par exemple, Obeso (1997) a montré que, durant la fructification, les individus femelles de houx (*Ilex aquifolium*) allouent environ 8 fois plus de biomasse par branches dans la floraison que les individus mâles. En revanche, les individus mâles ont une croissance végétative plus importante que les individus femelles.

Les liens entre la taille des plantes et les coûts de la reproduction associés sont également souvent analysés. L'hypothèse avancée est que si les plantes de taille importante investissent plus dans la reproduction, alors les coûts de la reproduction augmentent avec la taille de la plante (Weiner, 1988). Ainsi, des études ont montré que les coûts de la reproduction augmentent avec la taille des plantes de *Plantago major* (Reekie et Bazzaz, 1992), de *Pinguicula vulgaris* (Worley et Harder, 1996) et de *Ranunculus acris* (Hemborg et Karlsson, 1998).

La production de fruits a été corrélée à la réduction de croissance végétative, portant potentiellement la reproduction suivante (Harper, 1977 ; Wilson et Burley, 1983). Bogdanowicz *et al.* (2011) ont montré que, après chaque épisode de forte reproduction, les individus de *Carex secalina* produisent un nombre de pousses végétatives plus faible. Kawamura et Takeda (2006) ont mis en évidence des effets négatifs de la floraison sur la croissance végétative de *Vaccinium hirtum*, à savoir une diminution du nombre et de la longueur des pousses végétatives.

Certaines études se focalisent sur les coûts métaboliques de la reproduction, comme par exemple la production de nectar, qui représente un investissement énergétique considérable (Harder et Barret, 1992). Pyke (1991), après avoir retiré le nectar des fleurs de *Blandfordia nobilis*, a constaté une augmentation de la production de nectar ainsi qu'une réduction de la production de graines. Ces résultats suggèrent un trade-off entre la production de nectar et la production de graines.

## E. Coûts de la reproduction en horticulture fruitière

Les coûts de la reproduction sont généralement étudiés sur des espèces sauvages pérennes herbacées ou ligneuses, mais ont rarement été étudiés sur des plantes cultivées, comme sur des arbres fruitiers. Pourtant, on peut s'attendre à des coûts de la reproduction plus élevés chez les plantes cultivées, et donc plus faciles à détecter, du fait de la sélection de génotypes à haute productivité par rapport aux génotypes sauvages (Obeso, 2002).

Des impacts négatifs de la reproduction une année sur la croissance végétative et la reproduction suivantes, ont été mis en évidence sur plusieurs arbres fruitiers sans toutefois faire référence explicitement au concept des coûts de la reproduction (Murneek, 1926 ; Grace et Wetzel, 1981 ; Forshey et Elfving, 1989 ; Kozłowski, 1992a).

Des études sur pommier et sur oranger ont mis en évidence un effet négatif d'une charge importante en fruits sur le développement végétatif suivant (Lenz, 1967 ; Jonkers, 1979 ; Forshey et Elfving, 1989 ; Lauri *et al.*, 2010). De plus, des relations négatives entre les productions de fruits sur deux années successives ont été montrées sur pommier (Chan et Cain, 1967) et sur poirier (Jonkers, 1979). Jannoyer et Lauri (2009) ont montré que la diminution de 50% du nombre d'inflorescence sur un manguier augmente le taux de fructification, ce qui permet de maintenir la production par rapport à des témoins sans réduction du nombre d'inflorescences.

Stevenson et Shackel (1998) ont étudié chez le pistachier les liens entre les coûts de construction de la reproduction, correspondant à la quantité d'énergie nécessaire pour produire un gain net de matière sèche reproductive, i.e., fruit, et l'alternance de production des arbres. Ils ont montré que le stockage des glucides chez des arbres en année « OFF » équivaut à seulement 8% de l'énergie nécessaire à la construction de la reproduction l'année « ON » suivante. L'alternance de production du pistachier n'est pas due à l'augmentation de la production de biomasse reproductive pendant les années « ON » mais plutôt au changement dans l'allocation de biomasse entre la croissance végétative et la croissance des fruits.



## **II. Le manguier, problématique et** **hypothèses**





---

## II. Le manguier, problématique et hypothèses

---

### 1. Généralités sur le manguier

#### A. Taxonomie, origine et distribution

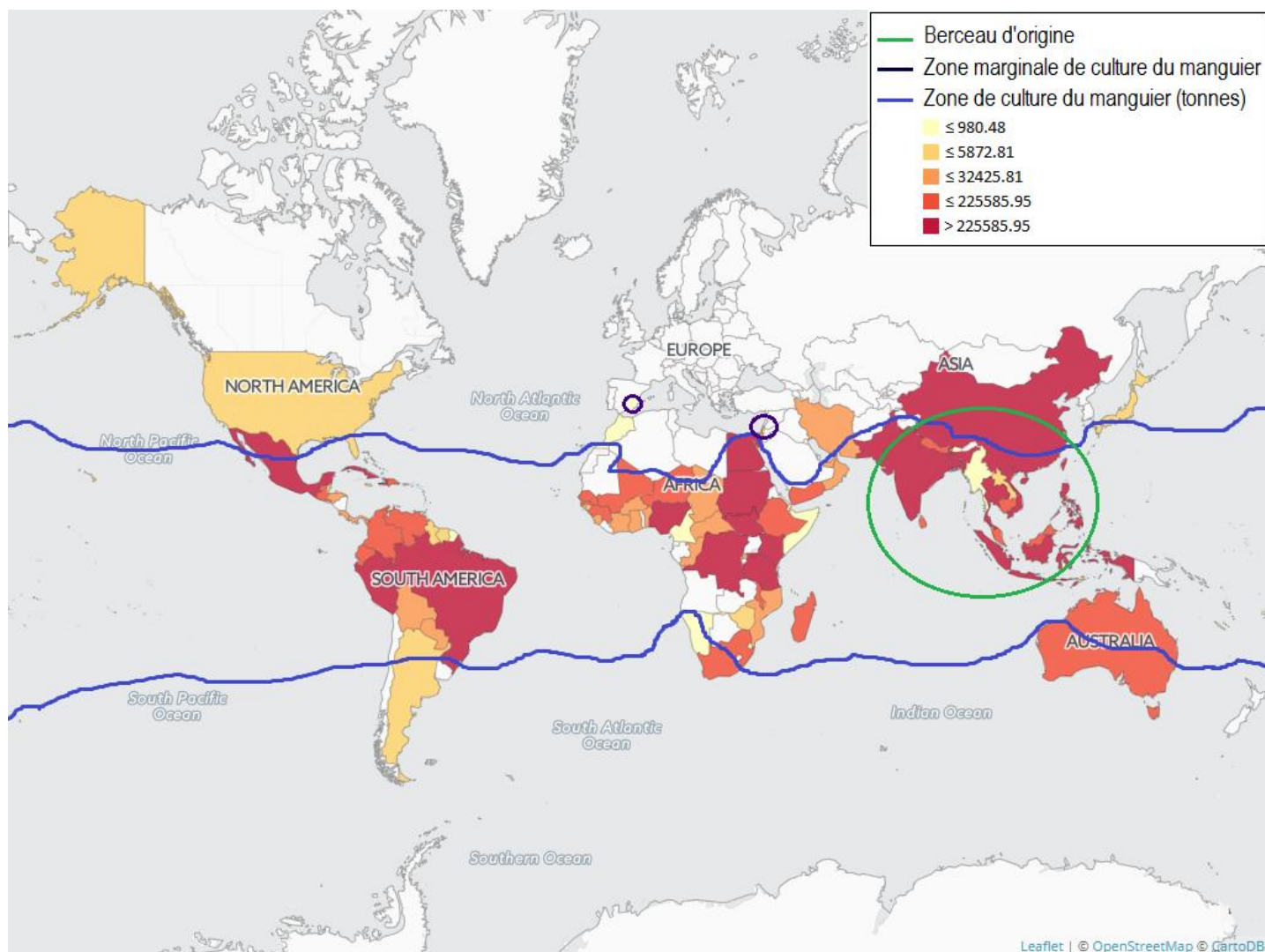
Le manguier, *Mangifera indica* L., est un arbre de la famille des Anacardiaceae, comme l'anacardier (*Anacardium occidentale*) et le pistachier (*Pistacia vera* L.) (Bompard, 2009). Cette famille comporte environ 600 espèces de plantes dicotylédones réparties en 73 genres dans les régions tempérées et tropicales (Bompard et Schnell, 1997). La plupart de ces espèces ont une importance économique, comme la production de fruits comestibles (manguier, anacardier, pistachier), mais également la production de bois (*Anacardium occidentale*, *Schinus molle*), de tanin (*Rhus coriaria*, *Cotinus coggygria*) et de thérébentine (*Pistacia terebenthus*). Le genre *Mangifera* comporte 69 espèces, mais seule l'espèce *Mangifera indica* est cultivée (**Photo 1**).



**Photo 1** : Manguiers (*Mangifera indica* L.). © Mathilde Capelli.

Le manguier est originaire d'une vaste zone s'étendant des forêts du Nord-Est de l'Inde, du Bhoutan, de l'Assam et de la Birmanie, jusqu'aux Philippines (Kosterman et Bompard, 1993). Sa domestication y aurait débuté il y a 4000 ans (De Candolle, 1885), et deux zones d'origine sont identifiées (**Figure 6**) : le Nord de l'Inde avec les mangues monoembryonnées, et l'Asie du Sud-Est (Indonésie, Philippines, Thaïlande) avec les mangues polyembryonnées (Iyer and Schnell, 2009). Le manguier fut introduit au X<sup>ème</sup> siècle en Afrique de l'Est et à Madagascar par les navigateurs Arabes, et au XVI<sup>ème</sup> siècle en Afrique de l'Ouest et au Brésil par les Portugais. Il a été disséminé autour de la ceinture intertropicale par les navigateurs dès le XVII<sup>ème</sup> siècle (Mukherjee, 1997).

Le manguiier est maintenant cultivé dans toute la zone intertropicale, à l'exception des régions où le climat lui est défavorable : températures trop basses en altitude, pluviosité trop faible ou trop forte, absence de saison sèche marquée... Son extension actuelle dans une centaine de pays tropicaux et sub-tropicaux est répartie sur les cinq continents. Dans quelques cas cependant, la zone de culture s'étend dans des zones marginales au climat méditerranéen, comme Israël ou le Sud de l'Espagne.



**Figure 6 :** Répartition de la culture économique de la mangue à travers le monde entre 1994 et 2004. Adaptée de Mukherjee (1997) et FAOSTAT (2015).

La plupart des espèces qui sont cultivées sur une aire géographique étendue présentent une grande diversité génétique due aux différents environnements de culture. Par exemple, les variétés de manguiier présentes en Inde diffèrent nettement au niveau de l'architecture de l'arbre, mais également au niveau de la forme et de la couleur des fruits, des variétés se développant dans les pays du Sud-Est de l'Asie (Knight *et al.*, 2009).

Un autre facteur qui a favorisé la diversité génétique a été l'introduction massive de cette espèce dans de nouvelles zones géographiques au cours des 500 dernières années, notamment dans l'hémisphère Nord. De cette manière, la diversité génétique a été amenée dans des zones très éloignées de l'aire d'origine de l'espèce (Knight *et al.*, 2009). La diffusion du manguiier, et la

multiplication dans ces nouvelles zones, se sont faites par graine et semis, favorisant ainsi la diversité génétique. En effet, les manguiers monoembryonnés sont peu stables génétiquement par semis, i.e., ils ne se reproduisent pas à l'identique. Les populations locales ont sélectionné puis multiplié végétativement les génotypes les plus intéressants, surtout sur la base de la qualité des fruits. Plus de 1000 variétés de manguiers existent ainsi à travers le monde. Cependant, seulement une quinzaine de cultivars, i.e. variétés cultivées, représentent la majeure partie de la production mondiale.

## B. Production mondiale

La mangue se place couramment à la cinquième place de la production fruitière mondiale avec 43.9 millions de tonnes produites en 2013 (Gerbaud, 2015) derrière les bananes (106.7 millions de tonnes, Mt), la pomme (80.8 Mt), le raisin (77.2 Mt), et les agrumes (71.5 Mt) (FAOSTAT, 2015).

La production de mangues a été multipliée par 1.5 au cours des 10 dernières années, passant de 29.7 Mt en 2004, à 43.9 Mt en 2013. Cette augmentation de production souligne l'importance de la mangue comme ressource alimentaire pour les populations des pays tropicaux, mais souligne également la progression de la consommation européenne, la mangue étant devenue un fruit prisé sur les marchés des pays tempérés (FruiTrop, 2015).

La production de mangues est inégalement répartie entre les quatre continents, avec plus de 75% produit par l'Asie, 12.7% produit par l'Amérique Centrale et l'Amérique du Sud, 12% par l'Afrique, et 0.1% par l'Océanie (FAOSTAT 2015). La production Européenne en Espagne est négligeable (environ 5000 tonnes). Les cinq principaux pays producteurs de mangues sont l'Inde, où presque 50% des mangues du monde sont produites principalement pour la consommation nationale avec près de 18 Mt en 2013, puis la Chine avec 4.5 Mt en 2013, la Thaïlande, l'Indonésie, et enfin le Mexique (FAOSTAT 2015). La France produit près de 6 000 t par an, 60% venant de l'île de la Réunion, 17% de la Guadeloupe, et 6% de la Guyane (Données Agreste, Ministère de l'agriculture ; FAOSTAT 2015).

Le Mexique est le premier pays exportateur de mangues, avec près de 350 000 t de mangues exportées en 2013, juste devant l'Inde (260 000 t) (FruiTrop, 2015 ; FAOSTAT, 2015).

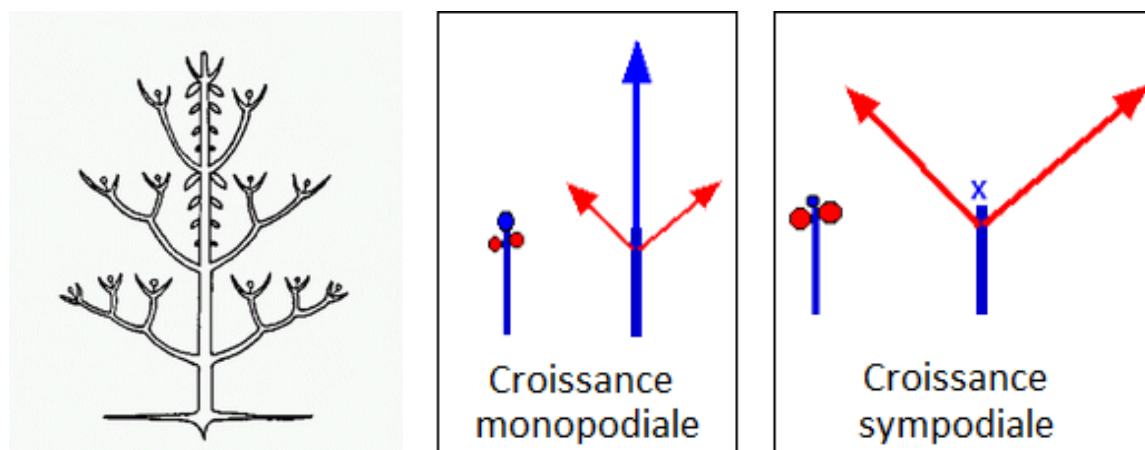
Les Etats-Unis et la Chine sont les deux premiers pays importateurs de mangues, avec près de 440 000 et 200 000 t de mangues importées en 2013, respectivement (FruiTrop, 2015 ; FAOSTAT, 2015).

## C. Botanique

### Appareil végétatif aérien

Le manguiers est un grand arbre sempervirent, i.e., à feuillage persistant, dont le port peut être érigé à plus ou moins étalé. Sa taille peut atteindre 45 mètres de haut, et sa longévité plus de 100 ans (Mukherjee et Litz, 2009). Il suit le modèle architectural de Scarrone, c'est-à-dire qu'il possède un tronc principal monopodial et orthotrope, qui porte des étages de branches sympodiales orthotropes à plagiotropes due à des floraisons terminales (Hallé *et al.*, 1978).

La croissance monopodiale correspond à la croissance d'un axe par l'activité du bourgeon terminal. A l'inverse, la croissance sympodiale correspond à la croissance des bourgeons latéraux qui entraîne la ramification (Barthélémy et Caraglio, 2007) suite à l'avortement, au faible développement, ou à la transformation en organe reproducteur du bourgeon terminal (**Figure 7**). Dans le cas du manguier, le fonctionnement sympodial est dû à la transformation du bourgeon terminal en inflorescence (Goguey, 1995).



**Figure 7** : Le modèle architectural de Scarrone (Edelin, 1984), et schémas explicatifs de la croissance monopodiale et sympodiale © Roger Prat.

L'« unité de croissance » (UC) correspond à la pousse feuillée issue d'un bourgeon qui se met en place au cours d'une période ininterrompue de croissance végétative (Hallé et Martin, 1968 ; Hallé *et al.*, 1978 ; Barthélémy et Caraglio, 2007). Toute la structure ligneuse est formée d'UCs qui se succèdent (croissance monopodiale) ou qui se branchent (ramification, croissance sympodiale).

Le feuillage du manguier est persistant et aromatique, à odeur de térébenthine. Ses feuilles minces sont vertes foncées, simples et sont arrangées en spirale phyllotaxique d'indice 2/5 (Goguey, 1995). Cependant, la forme des feuilles varie suivant les cultivars : elles peuvent être lancéolées, oblongues, ovales ou elliptiques. La couleur des feuilles varie avec l'âge : les jeunes feuilles sont d'abord de couleur plutôt rouge (feuilles anthocyanées) puis jaune et/ou vert clair suivant les cultivars, tandis les feuilles adultes sont plutôt de couleur vert foncé (**Photo 2**). La durée de vie des feuilles est de 3-4 ans (Holdsworth, 1963).





**Photo 2** : Feuillage du manguier avec unités de croissance et feuilles d'âge différent. © Mathilde Capelli

### Appareil racinaire

Le système racinaire du manguier est composé d'un système pivotant profond et vigoureux, et d'un système de racines fasciculées (Laroussilhe, 1980). Les racines pivotantes, orthotropes et de forme conique, ont une fonction d'ancrage de la plante dans le sol, principalement au cours des premiers stades de son développement, ainsi qu'une fonction d'alimentation en eau prélevée en profondeur. Leur enracinement peut être très profond (plus de six mètres si la texture et la profondeur du sol le permettent). Les racines fasciculées, très nombreuses, se développent sur une surface importante mais peu profonde, et assurent la nutrition minérale et hydrique du manguier (Goguey, 1995 ; Normand, 2009).

### Appareil reproducteur

Les fleurs de manguier sont réunies sur des panicules pyramidales de taille variable. Une panicule est une inflorescence définie qui est irrégulièrement ramifiée et où chaque ramification possède une fleur terminale (Mukherjee et Litz, 2009). La floraison est terminale : elle apparaît sur les UCs en position terminale dans la structure ligneuse. Parfois plusieurs inflorescences peuvent être présentes sur une UC : une inflorescence apicale, provenant du bourgeon apical, et une/plusieurs inflorescence(s) latérale(s), provenant des bourgeons latéraux (Goguey, 1995). L'inflorescence peut mesurer jusqu'à 30 cm de longueur (Mukherjee et Litz, 2009). Les fleurs, de couleur jaune, orange et/ou rouge, sont de petite taille (entre 5 et 10 mm de diamètre) et sont en général très nombreuses sur une panicule, entre 200 et 10000 fleurs par panicule suivant les cultivars (Goguey, 1995 ; Galán-Saúco, 1999) (**Photo 3**). Il existe deux types de fleurs sur les inflorescences de manguier : les fleurs mâles et les fleurs hermaphrodites, c'est-à-dire qu'elles ont à la fois des organes reproducteurs mâles (étamines) et femelles (pistil). La majorité des fleurs sont des fleurs mâles ; 1 à 30% des fleurs sont hermaphrodites, et ce sont les seules à pouvoir produire des fruits (Bally, 2006). Le manguier est une espèce auto-compatible. La pollinisation est principalement assurée par des mouches de la famille des Calliphoridae. Malgré une production importante de pollen, le pourcentage de fructification reste faible : entre 3 et 35% (Singh, 1954).



**Photo 3** : Fleurs de manguiers © Mathilde Capelli

La mangue est une drupe, c'est-à-dire un fruit charnu indéhiscent à noyau. Sa forme, sa taille, la couleur de sa peau et de sa pulpe (appelée aussi mésocarpe) ainsi que son arôme varient beaucoup suivant les cultivars.

Les fruits peuvent être de forme ovale, ronde, oblongue ou elliptique. La taille des mangues varie entre 20 à plus de 45 cm de long, et de 7 à 12 cm de diamètre. Elles peuvent peser entre 150 g et 1500 g suivant les cultivars (Normand, 2009). La couleur de l'épiderme (verdâtre, violet, rouge carmin, jaune, orange...) et de la pulpe (rouge, orange, jaune...) peuvent être très variables (**Photo 4**). La couleur de la peau est due à différents composés : chlorophylles, carotènes, anthocyanines (responsables de la teinte rouge) et xanthophylles. La saveur de la pulpe est liée aux glucides, aux acides organiques, aux lactones, aux monoterpènes hydrocarbonés et aux acides gras (Mitra et Baldwin, 1997). Durant la maturation du fruit, l'amidon qui s'accumule dans les chloroplastes est hydrolysé en saccharose, glucose et fructose, ce qui donne un goût sucré aux mangues (Medlicott *et al.*, 1986 ; Selvaraj *et al.*, 1989).



**Photo 4** : Fruits immatures (en haut) et matures (en bas) de différents cultivars de manguiers. De gauche à droite : Caro, Irwin, Kensington Pride, Heidi, Kent, Nam Doc Maï, Tommy Atkins, José, Cogshall, Sensation. © Mathilde Capelli, Frédéric Normand, Didier Vincenot.

Au niveau nutritionnel, la teneur en eau de la mangue est de l'ordre de 82 à 86% du poids frais (USDA, 2008) et sa teneur en sucres varie de 9 à 16% selon les cultivars, avec environ 9% de saccharose, 2.6% de fructose et 0.85% de glucose. La valeur énergétique de la mangue vient principalement de sa teneur en sucres, correspondant à une valeur calorique de l'ordre de 60 à 65

kcal/100g de pulpe (Joas et Léchaudel, 2009). La mangue contient deux vitamines essentielles à la santé humaine : la provitamine A (ou  $\beta$ -carotène) avec une valeur minimale de 3mg/100 g de pulpe (taux supérieur à celui du melon ou de l'abricot, qui sont les fruits tempérés les plus riches) et la vitamine C avec une valeur de 25 à 50 mg/100g (l'orange se situant entre 40 et 80 mg/100g). La mangue assure un « apport de sécurité » pour ces deux vitamines (Joas et Léchaudel, 2009). La mangue contient également 1.7% de fibres, 0.6% de protéines, 0.5% de lipides, 0.5% de minéraux (potassium, magnésium, calcium), 0.4% d'acides organiques (citrate, malate, oxalate), ainsi que des acides aminés et des acides gras (Mukherjee et Litz, 2009).

A partir de la floraison, 100 à 150 jours sont nécessaires pour permettre la croissance et atteindre la maturité des mangues. Cette durée varie avec la température (Léchaudel, 2004), le cultivar, la pluviométrie, et la nature du sol. Cependant, la mangue est un fruit qui a la capacité de mûrir après la récolte (Joas et Léchaudel, 2009). Cette caractéristique classe la mangue dans la catégorie des fruits dits « climactériques ». Sa maturation est dépendante de l'éthylène et associée à une augmentation de la respiration cellulaire de ses tissus. C'est en récoltant la mangue en début de maturation que le maximum des caractéristiques énergétiques et nutritionnelles est obtenu. Pendant la maturation, la composition du fruit évolue, et en phase de sénescence, la mangue perd une partie de ces caractéristiques via la dégradation des sucres, des acides et des vitamines (Joas et Léchaudel, 2009 ; Nordey, 2014).

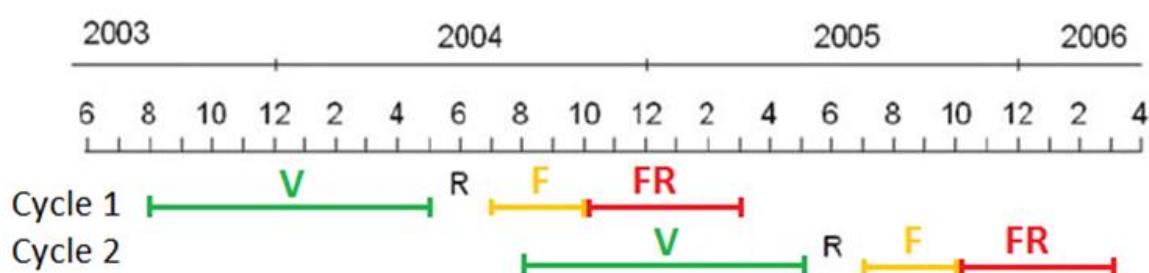
La mangue est un fruit monosperme, c'est-à-dire que qu'elle ne contient qu'une seule graine. La graine est grande et plate, et entourée d'un endocarpe fibreux au moment de la maturité (Mukherjee et Litz, 2009). On peut distinguer deux groupes de variétés en fonction du nombre d'embryons présents dans la graine :

- les variétés à graine monoembryonnée, qui contiennent un seul embryon zygotique. Ces variétés sont originaires des régions subtropicales fraîches et sèches de l'Inde, et sont caractérisées par leur sensibilité à l'humidité. Ces variétés zygotiques se prêtent à la réalisation de croisements.
- les variétés à graine polyembryonnée, qui contiennent un embryon zygotique et plusieurs embryons nucellaires, issus de tissus maternels. Ces variétés sont originaires des régions tropicales chaudes et humides d'Asie du Sud-Est, et présentent une tolérance aux fortes humidités. Ces variétés se multiplient fidèlement par semis grâce aux embryons nucellaires et servent souvent de porte-greffe, notamment pour les variétés monoembryonnées.

## D. Cycle phénologique et croissance

En milieu tropical et subtropical, le cycle de production du manguier dure 18 mois et est composé de quatre phases phénologiques distinctes (**Figure 8**). Dans l'hémisphère austral, la **croissance végétative** commence en août et se termine en avril-mai. Elle est suivie d'une période de **repos** au début de la période fraîche, juste avant la **floraison** qui a lieu durant l'hiver austral, de juillet à septembre. Ensuite la **croissance des fruits**, correspondant à la période depuis le début de la croissance des fruits jusqu'à la récolte, s'étale de novembre à février. Pendant la fin de la floraison et toute la fructification du cycle n, il y peut y avoir une nouvelle croissance végétative correspondant au cycle n+1.





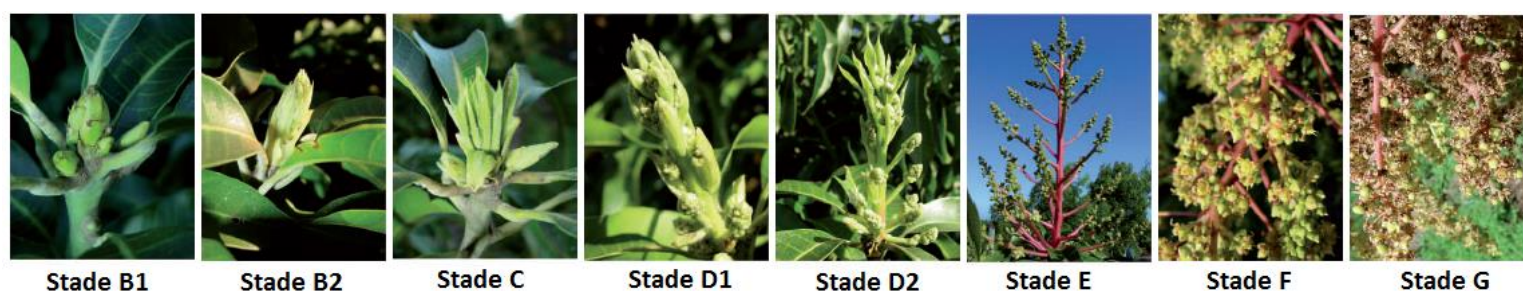
**Figure 8** : Cycles 1 et 2 de production du manguier à la Réunion (Cogshall à Saint Pierre). Les traits verts correspondent à la croissance végétative (V), les traits oranges à la période de floraison (F), les traits rouges correspondent à la croissance du fruit et à la récolte (FR), et les zones entre les traits correspondent au repos (R). Adaptée de Capelli *et al.* (2016).

On peut différencier 8 stades phénologiques au cours du développement végétatif (Dambreville *et al.*, 2015) (**Figure 9**). Entre le stade B1, qui correspond au gonflement du bourgeon sans ouverture des écailles, et le stade H, qui correspond à une UC mature, i.e., lorsque les feuilles sont vert foncé et que le pétiole est orienté à environ 45-60°, se passe en général 3 à 6 semaines, (Whiley *et al.*, 1991) selon les cultivars et les conditions climatiques, notamment la température. La croissance en longueur de l'axe principal de l'UC, i.e., croissance primaire, s'arrête en général avant la fin du stade F (Davenport, 2009 ; Dambreville *et al.*, 2015).



**Figure 9** : Stades de développement des unités de croissance du manguier (Dambreville *et al.*, 2015).

On peut également différencier 8 stades de développement des inflorescences (Dambreville *et al.*, 2015) (**Figure 10**). Entre l'ouverture du bourgeon (stade C), et la fin de la croissance de l'organe, i.e., UC ou inflorescence (stade H pour les UCs et stade F pour les inflorescences), se passe approximativement 10 à 25 jours suivant la température (Dambreville *et al.*, 2015).



**Figure 10** : Stades de développement reproducteurs des inflorescences de manguier (Dambreville *et al.*, 2015).



Le cycle phénologique du manguier dépend de nombreux facteurs, tels que la situation géographique, l'environnement, les températures froides (Nuñez-Elisea et Davenport, 1994), l'âge de l'arbre et de la pousse terminale (Dambreville *et al.*, 2013) ou encore le cultivar (Chacko, 1986). Les phases phénologiques peuvent donc être décalées de plusieurs semaines entre deux cycles de production selon les conditions climatiques, entraînant des asynchronismes phénologiques (Dambreville, 2012).

### Croissance végétative

La croissance végétative du manguier correspond à l'augmentation continue de la taille des nouvelles UCs avec le temps (Karam, 2009). Cette croissance végétative est rythmique (Nakasone *et al.*, 1955 ; Hallé *et al.*, 1978 ; Davenport, 1993, 2000, 2003), et se produit de façon intermittente, pouvant aller jusqu'à trois ou quatre poussées de croissance par cycle sur des branches individuelles, en fonction du cultivar et des conditions de croissance. Ces poussées de croissance, appelées « flushs », sont généralement courtes, la durée d'élongation de l'axe d'une UC durant approximativement 7 à 12 jours, et celle des feuilles 11 à 13 jours (Dambreville *et al.*, 2013b). Cependant les problèmes d'asynchronismes entraînent un décalage dans le temps des flushs, qui peuvent ainsi durer plusieurs semaines (Dambreville *et al.*, 2015). Les nouvelles UCs peuvent se développer soit à partir du bourgeon apical de l'UC déjà mature quand il est présent, soit à partir de bourgeons latéraux si par exemple le bourgeon apical n'est plus présent, due à la floraison lors de la reproduction au cycle précédent.

La croissance végétative est dépendante des chaudes températures (25°C ou plus) et d'une pluviométrie importante (Núñez-Elisía *et al.*, 1996). De plus, cette croissance végétative est stimulée par un promoteur végétatif (« vegetatif promoter » VP) synthétisé dans les feuilles des jeunes pousses, et qui inhibe la floraison (Nuñez-Elisea et Davenport, 1995 ; Ramirez et Davenport, 2010). Ce promoteur VP, potentiellement une gibbérelline (Davenport, 2007), semble diminuer avec l'âge des pousses. La floraison sera alors affectée par ce promoteur jusqu'à ce que les UCs et les feuilles soient matures et ne produisent plus ce promoteur VP (Davenport, 2007).

### Repos

La période de repos se caractérise par une entrée en quiescence de l'arbre. L'entrée dans cette période est concomitante à une baisse des températures et de la pluviométrie. En effet, des températures fraîches ainsi qu'un stress hydrique empêchent le débourrement végétatif et maintiennent les arbres en repos avant la floraison (Singh, 1960 ; Bally *et al.*, 2010). Cette période est indispensable à la floraison car elle permet d'accumuler des réserves qui seront ensuite sollicitées lors de la floraison (voir ci-dessous) et de la nouaison (Whiley *et al.*, 1989). De plus, cette période de repos permet aux UCs, ainsi qu'à leurs feuilles nouvellement formées d'acquérir un âge minimum, diminuant ainsi l'activité des promoteurs végétatifs responsables de l'inhibition de la floraison (Davenport, 2009 ; Ramirez et Davenport, 2010).

### Floraison

La floraison se déroule en plusieurs phases. Chez les plantes herbacées et les fruitiers tempérés, l'induction florale se déroule plusieurs mois avant l'initiation florale. En revanche, chez le manguier, l'induction florale se produit pratiquement au même moment que l'initiation florale (Davenport, 2007, 2009 ; Ramirez et Davenport, 2010).

- L'**induction** florale, qui se passe au cours du repos végétatif, est influencée par une exposition à des températures fraîches ( $< 18^{\circ}\text{C}$ ) (Núñez-Eliséa et Davenport, 1995), et correspond à la période où les feuilles envoient au méristème un signal de floraison. Ce signal de floraison, qui correspond à un promoteur florifère (« florigenic promoter » FP), est synthétisé dans les feuilles (Singh et Singh, 1956; Singh, 1959, Núñez-Elisea et Davenport, 1992). Il active le développement des méristèmes latéraux dans le bourgeon pour former les axes secondaires, tertiaires et quaternaires de l'inflorescence (Davenport, 2007, 2009 ; Ramirez *et al.*, 2010).

- L'**évocation** florale est la période où le méristème se réorganise suite à l'action du promoteur FP synthétisé par les feuilles. Elle correspond à une réorganisation de l'architecture de l'apex, via une différenciation des méristèmes en ébauches florale suite à l'induction florale.

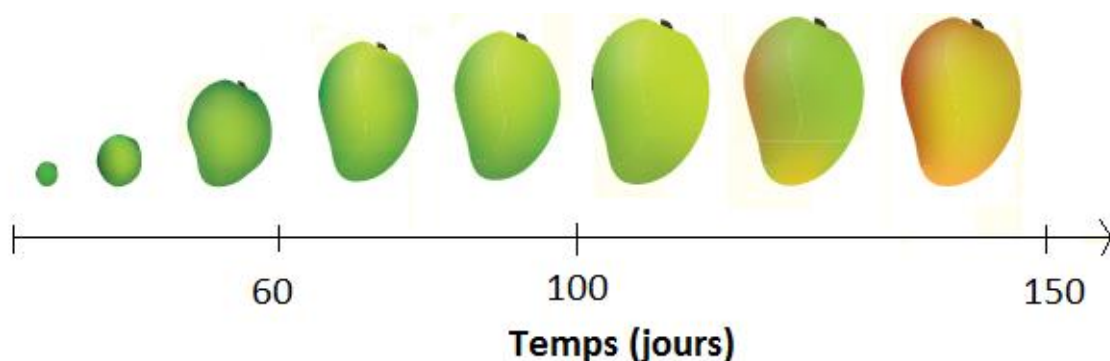
- L'**initiation** florale correspond au débourrement des bourgeons et l'apparition des inflorescences. Cette étape qui se produit au niveau des méristèmes implique la division et l'élongation des cellules (Davenport et Nuñez-Eliséa, 1997 ; Davenport, 2000, 2003, 2009). L'initiation florale peut être stimulée de la même manière que l'induction florale par des facteurs environnementaux (températures fraîches et sécheresse), mais également par des facteurs anthropiques (taille, irrigation, ou application de substances azotées ou de fertilisants) (Davenport, 2009).

- Après l'initiation florale, se produit le **développement des pièces florales**, qui correspond à la **floraison** au sens large.

En résumé, un stress hydrique et des températures fraîches inhibent le développement végétatif, et permet l'entrée en repos de l'arbre. La proportion de jeunes feuilles diminue, et celle de feuilles matures augmente. Cela contribue à diminuer la synthèse du promoteur végétatif VP. Les températures fraîches (inférieures à  $18^{\circ}\text{C}$ ) permettent à ces feuilles matures de synthétiser le promoteur florifère FP, ce qui induit alors la floraison (Núñez-Eliséa et Davenport, 1995 ; Ramirez et Davenport, 2010).

### Croissance des fruits

Après la nouaison, i.e., la transformation de l'ovaire en fruit et le début de la croissance du fruit, il faut compter entre quatre et cinq mois jusqu'à la maturation des mangues (**Figure 11**).



**Figure 11** : Evolution de la croissance des mangues au cours du temps. Adaptée de Joas et Léchaudel (2009).

La croissance du fruit se traduit par l'élargissement en volume du fruit après une période de division cellulaire. Cet élargissement, de type sigmoïdal, est caractérisé par une accumulation d'eau et de carbone. Le fruit est alimenté par le phloème et le xylème (Léchaudel *et al.*, 2007). Le fruit atteint sa taille définitive environ 2-3 semaines avant la maturité (Singh, 1954 ; Randhawa et Damodaran, 1961 ; Ram, 1983).

La croissance des fruits est affectée par la disponibilité en glucides. Cependant, les fruits en croissance stimulent la photosynthèse des feuilles des UCs à proximité (Urban *et al.*, 2004b). La matière sèche des mangues contient principalement des glucides, 60% étant des sucres (Ueda *et al.*, 2000). La quantité de glucides fournie aux fruits dépend de la quantité produite par la photosynthèse, de la demande des fruits en glucides et de la disponibilité des réserves (Léchaudel et Joas, 2007). Plusieurs études ont montré que la taille des mangues augmente avec le ratio feuilles/fruits (Reddy et Singh, 1991 ; Léchaudel *et al.*, 2005). De plus, un faible ratio feuilles/fruits augmente la concentration en fructose, mais pas en glucose (Léchaudel *et al.*, 2005).

La croissance des fruits peut être affectée par la présence et/ou l'absence de certaines hormones. Un déficit en AIA, GAs et/ou CKs, couplé à un taux élevé d'ABA, cause la chute de fruits chez les manguiers 'Dashehari' (Ram, 1983). De plus, les fruits, et particulièrement les graines, produisent de l'AIA et des GAs, au cours de leur croissance (Ogawa, 1963 ; Chacko *et al.*, 1970, 1972 ; Singh et Singh, 1974 ; Ram, 1983 ; Chen, 1981).

## E. Conditions de culture

Les conditions climatiques et pédologiques affectent considérablement le développement des manguiers, ainsi que la qualité de ses fruits (Mukherjee, 1953).

### *Climat*

Le climat favorable à la culture du manguiers est celui des zones tropicales et sub-tropicales semi-arides. Les températures ainsi que la pluviométrie sont les deux principaux facteurs climatiques affectant le développement des manguiers.

Température : Les gelées sont un facteur limitant pour la culture du manguiers, et des températures en dessous de -6°C causent la mort des arbres (Campbell et Campbell, 2005 ; Ramirez et Davenport, 2010). Des températures au-dessus de 40°C peuvent causer des stress thermiques, cependant le manguiers peut tolérer des températures jusqu'à 48°C pendant la nouaison (Galán-Saúco, 1999). Une saison fraîche (températures moyennes inférieures à 20°C) de deux à trois mois entraîne le repos végétatif et favorise l'induction florale. Cependant, les températures minimales doivent être supérieures à 15°C pour que le pollen puisse germer dans de bonnes conditions. En revanche, lorsque les températures sont plus élevées, 25°C ou plus, le débourrement des bourgeons est végétatif (Nuñez-Elisea *et al.*, 1996 ; Ramirez et Davenport, 2010).

Pluviométrie : Ce n'est pas la quantité de précipitations qui est importante, mais plutôt la saison à laquelle les précipitations tombent. Les meilleures régions pour la culture du manguiers sont celles où les saisons humides (150 mm/mois) alternent avec des saisons sèches (<50 mm/mois). C'est lors de la

saison sèche que la floraison a lieu. L'humidité a une influence marquée sur le développement des attaques parasitaires sur la floraison. Des précipitations annuelles supérieures à 1500 mm entraînent des problèmes phytosanitaires insurmontables pour la plupart des variétés commerciales (Normand, 2009).

### *Sol*

Le manguier peut se développer sur des sols avec des pH variant de 5,5 à 7,5. Il s'adapte à des sols variés à conditions qu'ils soient bien drainés. Un sol suffisamment profond est nécessaire pour le développement et l'installation de ses racines pivotantes. Les manguiers se développent également sur des sols à texture très caillouteuse car l'irrigation y est parfaitement maîtrisée (Normand, 2009). En revanche, si le sol est constamment irrigué, ou faiblement drainé, les arbres ne fructifient pas beaucoup. Le taux de matière organique doit être compris entre 4 et 5% en surface, et de 1 à 2% en profondeur, et le rapport carbone/azote doit être entre 9 et 10 (Raunet, 1991).

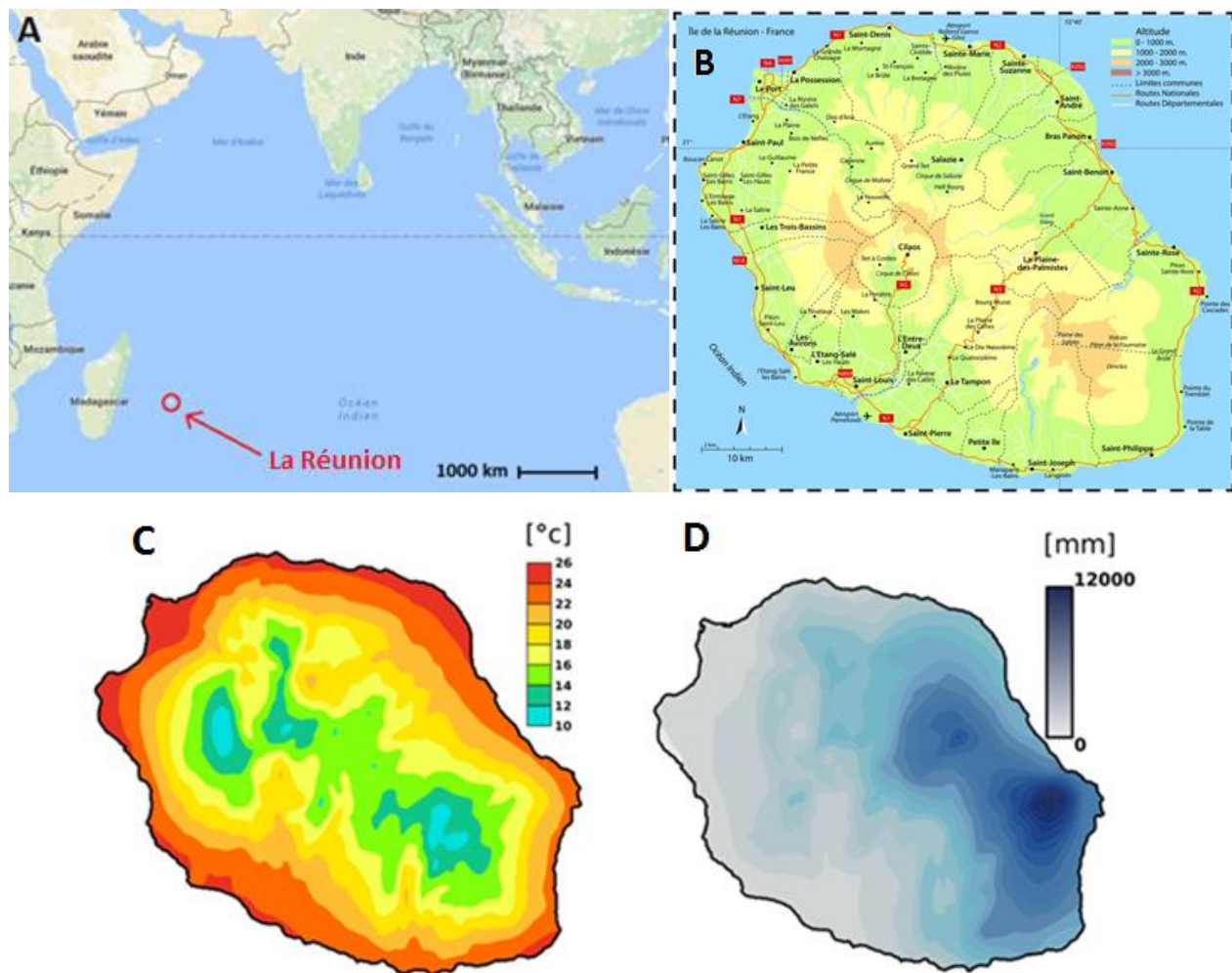
## **2. Le manguier à la Réunion**

Le manguier fut introduit à la Réunion aux alentours de 1770 par Déguigne de la Bérangerie. Néanmoins, il doit son développement sur l'île à un horticulteur Réunionnais, Jean-Baptiste Antoine Payet, qui travailla sur les cultivars les plus productifs et aux meilleures qualités gustatives à partir de 1835.

### **A. Les conditions climatiques de la Réunion**

La Réunion est une île du Sud-Ouest de l'Océan Indien dans l'hémisphère Sud (21°10'S, 55°50'E), dans l'archipel des Mascareignes, à environ 700 km à l'Est de Madagascar (**Figure 12.A**). Elle est caractérisée par un climat tropical humide à l'Est sous l'influence des alizés, et par un climat plutôt sec à l'Ouest, due à la présence de hautes montagnes (**Figure 12.B**) : le relief bloque les alizés sur la côte au vent, humide, et protège la côte sous le vent, sèche.

Malgré la latitude (21° sud), l'influence océanique tempère les températures estivales qui ne sont jamais caniculaires (rarement au-dessus de 35°C). On relève néanmoins de fortes différences de température entre le bord de mer, plutôt chaud (25°C en moyenne), et les zones d'altitude relativement fraîches (20°C en moyenne) (**Figure 12.C**). Le gradient thermique de la Réunion est en moyenne de -0.7°C par 100m. On relève également de fortes différences de précipitation entre la côte au vent à l'Est (zone humide, St Benoît étant la ville la plus arrosée du littoral avec 3464 mm de précipitation annuelle moyenne) et la côte sous le vent à l'Ouest (zone sèche, le Port étant la ville la plus sèche avec une moyenne annuelle de précipitations de 636 mm) (**Figure 12.D**). Le climat de l'île est donc tropical au niveau de la mer alors qu'il est plutôt de type tempéré dans les hautes altitudes (Chopard *et al.*, 2002).



**Figure 12 :** Cartes représentant (A) la localisation de la Réunion dans l’Océan Indien, (B) la topographie de l’île de la Réunion, (C) les isothermes (en °C) et (D) les pluviométries (en mm) annuelles moyennes sur l’île de la Réunion. © Cartes Google Images et données Météo France BY-SA 3.0.

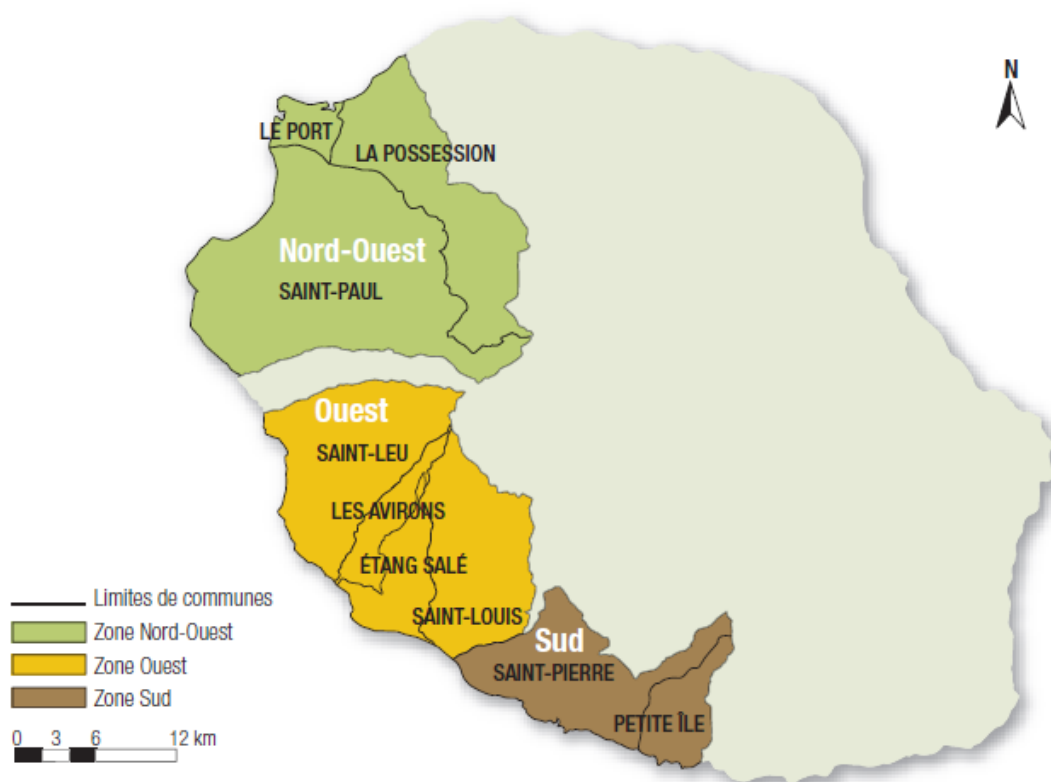
Il existe deux saisons marquées à la Réunion : la saison des pluies et la saison sèche. La saison des pluies correspond à une saison chaude (température moyenne de 26.5°C sur le littoral) et humide, et dure en général cinq mois de décembre à avril. La saison sèche correspond à une saison fraîche (température moyenne de 21°C sur le littoral) et sèche, et dure sept mois de mai à novembre.

L’île de la Réunion est située dans la zone de passage des cyclones tropicaux de l’Océan Indien. L’île peut être touchée à n’importe quel stade du développement de ces cyclones. Les vents moyens ne dépassent pas 63 km/h pour une dépression tropicale et 118 km/h pour une tempête tropicale. Au stade de cyclone tropical, la force des vents augmente en allant vers le centre du système et atteignent leur maximum dans le mur de nuages qui compose la bordure de l’œil (Jumaux *et al.*, 2011). Les rafales peuvent dépasser 250 km/h à cet endroit, alors que dans l’œil lui-même les vents sont légers.

## B. La culture du manguiier à la Réunion

La culture du manguiier s'étend de la côte Nord-Ouest à la côte Sud, entre 0 et 400m d'altitude. On distingue trois zones de production (**Figure 13**) : le Nord-Ouest (communes de St Paul, du Port et de la Possession), l'Ouest (de St Leu à St Louis), et le Sud (St Pierre et Petite Ile).

Le climat chaud et sec de cette zone correspond bien aux préférences du manguiier, surtout lors de la floraison.



**Figure 13** : Les trois zones de production de mangues à la Réunion. Michels et Vincenot (2009).

En 2008, la surface totale des vergers représentait environ 329 ha répartis sur près de 80 exploitations. Les communes de la Possession et de Saint-Paul totalisaient près de 50% des exploitations productrices de mangues, et près de 70% des surfaces en vergers de manguiers. Dans cette zone, la taille des vergers de manguiers par exploitation était supérieure à la moyenne (6.1 ha, pour une moyenne générale de 4.1 ha) (Michels et Vincenot, 2009). La surface totale des vergers est actuellement supérieure à celle de 2008, car cette filière de production est une filière dynamique et de nouveaux vergers ont été plantés depuis.

En 2013, la Réunion a produit 2960 tonnes de mangues (FAOSTAT, 2015). Le potentiel de production de mangues dépasse 4000 tonnes par an les années de bonnes récoltes, c'est-à-dire une année avec une bonne floraison, peu d'attaque des ravageurs, et une absence de cyclone avant la période de récolte (Hoarau *et al.*, 2009).

Une cinquantaine de variétés différentes sont présentes à la Réunion (Chambre d'Agriculture, 2003 ; Vincenot, 2004). Cependant, seulement deux cultivars occupent actuellement plus de 80 % du

verger Réunionnais : 'José' et 'Cogshall' (Michels et Vincenot, 2009). Le premier est un cultivar local très prisé par la population Réunionnaise. Il occupe 50% des surfaces plantées, et sa production représente environ 1700 tonnes de fruits par an. Il est destiné au marché local car sa fragilité et ses caractéristiques sensorielles ne correspondent pas aux standards du marché international (Michels et Vincenot, 2009). Cogshall est un cultivar Floridien. Il occupe plus de 30% de la surface plantée en manguier à la Réunion, et sa production représente environ 750 tonnes par an. Son fruit correspond davantage aux standards commerciaux internationaux, avec sa coloration rouge-orangée à maturité, sa forme allongée, et ses caractéristiques sensorielles. C'est donc le cultivar qui est exporté, avec environ 110 tonnes exportées par an (Hoarau *et al.*, 2009). Enfin, certains producteurs cultivent d'autres variétés, dans des proportions moindres, relevant du patrimoine Réunionnais (par exemple Lise ou Caro). De nouveaux cultivars étrangers ont été mis en culture depuis quelques années, comme Nam Doc Mai (mangue Thaïlandaise) ou Heidi (mangue Sud-Africaine), suite à leur introduction et à leur évaluation par le Cirad.

### **3. Problèmes liés à la culture du manguier**

La culture du manguier est soumise à quatre contraintes principales qui affectent sa production : l'irrégularité de production, les asynchronismes phénologiques, l'hétérogénéité de la qualité et du stade de maturité des fruits à la récolte, et de nombreux ravageurs et maladies qui font des dégâts principalement sur la floraison et les fruits (Normand et Lauri, 2016). Ces différentes contraintes engendrent des conséquences pour le producteur ainsi que toute la filière.

Premièrement, le manguier est considéré comme une espèce irrégulière (Monselise et Goldschmidt, 1982). L'irrégularité de production de certains cultivars, comme par exemple Kensington Pride en Australie (Bally *et al.*, 1999), est un véritable fléau pour les producteurs (Hartless, 1914 ; Rao, 1997 ; Knight *et al.*, 2009). Lors d'une année « OFF », la faible production de fruits affecte les résultats économiques des producteurs et de toute la filière jusqu'au consommateur. Cette irrégularité de production joue également sur la qualité et la taille des fruits puisque les années « ON », les fruits ont tendance à être petits et de faible qualité, tandis que les années « OFF » ils sont plus gros et de meilleure qualité (Monselise et Goldschmidt, 1982). Une relation négative entre la charge en fruits de l'arbre et le poids moyen des fruits a été montrée chez Cogshall (Urban *et al.*, 2004 ; Léchaudel et Joas, 2006, 2007). Ils ont montré que sur des branches chargées, i.e., avec 10 feuilles par fruit, le poids moyen des fruits est de 218.5g, alors que sur des branches peu chargées, i.e., avec 100 feuilles par fruit, le poids moyen des fruits est de 420.2g.

Deuxièmement, le manguier est un arbre caractérisé par de forts asynchronismes phénologiques, végétatifs et reproducteurs, entre les arbres, et également à l'intérieur d'un même arbre (Chacko, 1986). Les asynchronismes phénologiques sont définis par la présence d'un stade phénologique particulier à différentes périodes à l'intérieur d'un arbre ou entre les arbres dans un verger (Dambreville *et al.*, 2013 ; Normand et Lauri, 2016). Ils correspondent à des débourrements des bourgeons décalés au cours du temps. Ces asynchronismes entraînent un étalement dans le temps des stades phénologiques, i.e., de la floraison, de la fructification et de la croissance végétative.

Troisièmement, la maturation des fruits est hétérogène entre les arbres et également à l'intérieur d'un arbre. A la récolte, les fruits sont potentiellement de maturité et de qualité hétérogènes car ils sont récoltés à des stades de développement différents, dus aux asynchronismes phénologiques. Cela touche également l'économie puisque la récolte est étalée sur un temps plus long, et peut potentiellement demander plus de main d'œuvre. La protection phytosanitaire des cultures est affectée, puisqu'il faut protéger les stades sensibles aux ravageurs en utilisant des pesticides à de nombreuses reprises à cause de l'étalement des stades (Normand et Lauri, 2016).

Quatrièmement, les problèmes liés aux ravageurs. Le manguier est sensible à plusieurs types de ravageurs, qui détruisent les inflorescences et attaquent les fruits, diminuant ainsi la quantité et la qualité des fruits en les rendant impropres à la commercialisation. De plus, les ravageurs affectent les feuilles des manguiers, soit en les détruisant, diminuant ainsi la photosynthèse en cas d'attaque sévère, soit à travers une spoliation de sève. Par exemple, les cécidomyies des fleurs (*Procontarinia mangiferae*) ou les thrips (*Scirtothrips aurantii*, *Selenothrips rubrocinctus*) détruisent partiellement ou totalement les inflorescences. Certains arthropodes affectent les fruits, comme *Colletotrichum gloeosporioides*, un champignon qui provoque l'anthracnose, i.e., le pourrissement de la pulpe, ou *Xanthomonas campestris* pv. *Mangiferaeindicae*, une bactérie qui provoque une bactériose, par exemple une nécrose des stomates et des lenticelles des fruits (Amouroux *et al.*, 2009). Les mouches des fruits (*Ceratitis rosa*, *C. capitata*, *Bactrocera zonata*) déposent leurs œufs sous l'épiderme des mangues. Après éclosion, les larves se nourrissent de la chair des fruits, les rendant impropres à la commercialisation. Les feuilles sont affectées par les cécidomyies des feuilles (*Procontarinia matteiana*) et par plusieurs cochenilles (*Coccus mangiferae*, *Aulacaspis tubercularis*, *Pseudonidia trilobitiformis*, *Ceroplastes* sp.) qui sont des insectes piqueurs-suceurs (Amouroux *et al.*, 2009). De plus, les cochenilles farineuses (*Icerya seychellarum*) produisent un miellat qui est responsable du développement de fumagine, un champignon utilisant le miellat comme ressource alimentaire et dont le développement sur les feuilles les prive de lumière (Delpoux *et al.*, 2015).

#### 4. Intérêts du manguier comme modèle d'étude

Plusieurs raisons nous ont amenés à choisir le manguier comme espèce modèle dans le cadre de cette thèse.

Sur un plan biologique : le manguier est un arbre caractérisé par une forte irrégularité de production, et qui varie selon les cultivars (Chacko, 1986).

Sur un plan socio-économique : c'est, avec le palmier-dattier, l'un des arbres fruitiers les plus anciennement cultivés (Mukherjee et Litz, 2009), et le 5<sup>ème</sup> fruit le plus produit au monde.

Sur un plan nutritionnel : la mangue contient une haute teneur en eau (82 à 86%, USDA, 2008), une haute teneur en sucres (de 9 à 16% selon les cultivars) et deux vitamines essentielles à la santé humaine (provitamine A et vitamine C) (Joas et Léchaudel, 2009).

Sur un plan scientifique : la culture du manguier en zone tropicale et subtropicale permet, par rapport aux espèces tempérées, d'étudier sa croissance et son développement sur une longue période car ces événements ont lieu presque tout au long de l'année.



Plusieurs travaux ont déjà été réalisés sur l'irrégularité de production chez le manguiier, prenant en compte les différences entre cultivars. Ces travaux cherchent à décrypter l'irrégularité de production en étudiant les effets de facteurs hormonaux, trophiques, architecturaux, et/ou climatiques (Chacko *et al.*, 1974 ; Monselise et Goldschmidt, 1982 ; Davie et Stassen, 1995 ; Bangerth, 2009 ; Nagakawa *et al.*, 2012 ; Dambreville *et al.*, 2013). Tous ces travaux nous apportent un cadre d'étude, qui nous permet d'émettre de nouvelles hypothèses pour étudier l'irrégularité de production du manguiier.

## **5. Etat de l'art des connaissances sur l'irrégularité de production chez le manguiier**

Beaucoup de thèmes différents ont été étudiés sur le manguiier au cours des dernières années. Nous allons ne présenter ici que les connaissances en lien avec ma thématique de thèse, à savoir l'irrégularité ou l'alternance de production, ainsi les relations entre les phases de reproduction et de croissance végétative chez le manguiier. Nous allons également présenter les travaux concernant la physiologie du manguiier, au niveau hormonal et trophique, ainsi que quelques travaux effectués sur les caractéristiques hydrauliques du manguiier.

### **A. Irrégularité de production**

L'irrégularité/l'alternance de production du manguiier est un thème étudié depuis plusieurs décennies.

En 1953, Roy étudie les différents patterns de flushs végétatifs en lien avec l'irrégularité de production des manguiiers en Inde. Singh (1959) a montré que l'absence de production dans les années « OFF » est le résultat d'une absence d'initiation florale. Monselise et Goldschmidt ont écrit en 1982 une review sur l'alternance de production, avec un chapitre alloué au manguiier.

Shaban (2009) a étudié les relations entre la croissance végétative, la floraison et la fructification, sur des arbres chargés et des arbres non chargés. Il a montré que le pourcentage de germination du pollen, le taux de floraison, la longueur de l'inflorescence, ainsi que le nombre de fruits par inflorescence, sont plus importants sur les arbres chargés que sur les arbres non chargés. En revanche, le poids individuels des fruits est plus important sur les arbres non chargés. Le pourcentage de croissance végétative, correspondant au nombre de flushs apparu au cours d'un cycle sur le nombre total de pousses, est plus important sur les arbres non chargés que sur les arbres chargés. De plus, les arbres non chargés produisent des pousses végétatives plus longues, avec plus de feuilles, et avec des surfaces foliaires individuelles plus grandes que les arbres chargés. Bien qu'il étudie les relations entre plusieurs variables reproductrices et végétatives, sur quatre cultivars, et trois années de production, Shaban a en revanche simplement admis que les arbres étaient chargés ou non chargés suivant leur production, mais il n'a pas pris en compte leur pattern production.

Reddy *et al.* (2003) ont étudié sur 21 années les effets de différents porte-greffes sur les patterns de croissance et de production des manguiiers 'Alphonso', grâce à plusieurs indices, B, BBI, RP et SP, présentés précédemment (Chapitre I. 1. B. b). En revanche, à notre connaissance, aucune étude quantitative n'a été effectuée sur l'alternance ou l'irrégularité de production de différents cultivars de manguiiers, à travers des calculs d'indices d'irrégularité.

Il a été montré, notamment chez le manguier, que les interactions entre reproduction et croissance végétative jouent un rôle dans l'irrégularité de production (Dambreville, 2012). La partie suivante correspond donc à l'état de l'art sur les interactions entre reproduction et croissance végétative chez le manguier.

## B. Interaction entre reproduction et croissance végétative

La croissance végétative représente une étape importante entre les phases de reproduction, puisqu'elle augmente le nombre de bourgeons potentiellement disponible pour la future floraison, et augmente le nombre de structures photosynthétiques, i.e., feuilles, permettant un apport glucides nécessaire à la floraison. L'étude de ces relations peut nous alors permettre d'améliorer notre compréhension de l'irrégularité de production des arbres (Mukherjee, 1953 ; Chacko *et al.*, 1982 ; Chacko, 1986). Sur manguier, de nombreux auteurs ont étudié les effets de reproduction sur la croissance végétation ( $R \rightarrow V$ ), ainsi que les effets de la croissance végétative sur la reproduction ( $V \rightarrow R$ ).

Effet  $R \rightarrow V$  : Chacko (1986) et Issarakraisika *et al.* (1991) ont montré que la présence d'une inflorescence ou d'un fruit au cours d'un cycle diminue le nombre et la fréquence des flushs végétatifs au cycle suivant. Dambreville *et al.* (2013) ont également montré qu'une UC reproductrice durant un cycle affecte négativement le débourrement végétatif au cycle de production suivant. Ce débourrement est alors moins importante et, lorsqu'il a lieu, est plus tardif que sur une UC restée quiescente. La date de la floraison (Whiley *et al.*, 1989 ; Chaikiattiyos *et al.*, 1994 ; Ramírez et Davenport, 2012), et le nombre final de fruits par inflorescences (Roemer *et al.*, 2008) varie beaucoup selon les cultivars.

Effet  $V \rightarrow R$  : Une croissance végétative retardée réduit le potentiel de floraison des UCs (Singh, 1960, 1972 ; Monselise et Goldschmidt, 1982). Scholefield *et al.* (1986) ont montré que ce sont les UCs végétatives les plus âgées qui produisent le plus d'inflorescences. La floraison et la fructification sont liées au diamètre des UCs porteuses, de façon quadratique et linéaire, respectivement (Normand *et al.*, 2009). Les UCs en position apicale sont plus longues, développent plus de surface foliaire, et leur probabilité de fleurir est plus importante que des UCs en position latérale (Normand *et al.*, 2009).

Bien que ces relations réciproques entre reproduction et croissance végétative puissent permettre de mieux comprendre l'irrégularité de production, très peu d'études ont fait le lien entre ces relations et le caractère alternant ou irrégulier des cultivars de manguiers.

## C. Etudes physiologiques sur le manguier

Beaucoup d'études physiologiques sur le manguier ont été effectuées ces dernières années. Pour étudier les relations entre la reproduction et la croissance végétative chez le manguier, des

études hormonales ou trophiques sont généralement analysées, mais rarement les deux en même temps.

#### *Etudes hormonales*

Les phytohormones ont un rôle dans la régulation de la reproduction et de la croissance végétative chez les plantes. Ce paragraphe représente l'état de l'art des connaissances sur les hormones qui affectent chez le manguier la floraison et/ou la croissance des fruits, contribuant potentiellement à l'irrégularité de production. Les hormones les plus étudiées chez le manguier sont l'auxine (AIA), les cytokinines (CKs) et les gibbérellines (GAs), ainsi que leurs interactions.

L'AIA inhibe l'initiation florale (Davenport, 2009 ; Ramirez et Davenport, 2012), mais joue un rôle positif majeur dans la croissance du fruit puisque la vitesse de croissance maximale du fruit est corrélée avec un pic d'AIA dans la graine (Prakash et Ram, 1984 ; Davenport, 2009). Des applications d'acide inhibiteur d'AIA causent la chute de mangues (Prakash et Ram, 1984). La présence du fruit entraîne un flux basipète d'AIA, qui inhibe le débourrement des bourgeons latéraux (Davenport, 2000).

Une application exogène de GAs, et principalement de GA3, inhibe également l'induction florale du manguier (Davenport et Nuñez-Elisea, 1997 ; Nuñez-Elisea et Davenport, 1998), probablement en inhibant l'expression du gène *MiFT*, qui est un facteur clé de la floraison (Nagakawa *et al.*, 2012). Pendant la croissance du fruit, il y a un pic de production de GAs dans les graines (Davenport, 2009). Les GA3 peuvent augmenter ou maintenir l'activité d'AIA, inhibant le débourrement végétatif (Davenport, 2000).

Le taux des CKs augmente dans la sève brute au début de la formation des inflorescences (Chen, 1987 ; Davenport, 2009 ; Ramirez et Davenport, 2012). Le complexe de CKs Zeatine/Zeatine-riboside augmente dans le bois et les bourgeons terminaux après des températures fraîches, et permet la stimulation de l'initiation florale (Naphrom *et al.*, 2004 ; Davenport, 2009 ; Ramirez et Davenport, 2012). Le ratio CKs/AIA dans les bourgeons régule le devenir des bourgeons au moment du débourrement (Bangerth, 1994) : une augmentation de ce ratio CKs/AIA entraîne le débourrement du bourgeon en inflorescences (Hegele *et al.*, 2005 ; Davenport, 2007). En revanche, un faible ratio CKs/AIA maintient la croissance végétative.

Ces études analysent principalement les effets des hormones sur l'induction florale, et rarement sur la croissance végétative. Or la croissance végétative présente un rôle important puisqu'elle est potentiellement porteuse de la future floraison.

#### *Etudes trophiques*

Les relations entre reproduction et croissance végétative chez le manguier sont également étudiées d'un point de vue trophique : la mise en place de structure reproductrices comme les inflorescences, ou plus encore comme les fruits, nécessite un apport d'éléments nutritifs (carbone, azote, sucres...). Plusieurs auteurs se sont penchés sur les besoins nutritifs dus à la reproduction, ainsi que les effets négatifs de la reproduction sur la croissance végétative dus à des réserves carbonées trop faibles.

Une faible réserve en amidon est corrélée positivement à la formation et l'initiation florale (Reece *et al.*, 1949 ; Singh, 1959). La période de développement de l'inflorescence peut être longue et exiger de grandes quantités de réserves (Chacko, 1986). L'initiation de la floraison dépend du maintien d'un haut niveau du ratio carbone:azote (Singh, 1960). Le développement fructifère requiert la présence de photoassimilats mais dépend aussi de la quantité de réserves de l'arbre (Chacko, 1986). Une forte

utilisation des réserves carbonées par le développement du fruit pendant les années « ON » peut mener à une diminution de la croissance végétative et de la fructification l'année suivante, résultant en une année « OFF » (Chacko *et al.*, 1982 ; Reddy et Singh, 1991; Davie et Stassen, 1996). Une forte charge en fruits favorise la photosynthèse, en augmentant la concentration d'azote dans les feuilles (Urban *et al.*, 2004). Un haut niveau d'azote dans les feuilles favorise la floraison (Davenport, 2009). Une augmentation du ratio feuille:fruit de 50 à 100 feuilles par fruit augmente la taille de la source et donc la disponibilité en carbone, et entraîne des fruits plus gros (Léchaudel et Joas, 2007). La pénurie d'approvisionnement en photoassimilats augmente la teneur en glucose et en fructose par unité de masse sèche dans la pulpe de mangue. Ces hexoses semblent avoir un rôle au cours du développement des fruits (Léchaudel et Joas, 2007).

#### *Etude sur les caractéristiques hydrauliques du manguier*

Le potentiel hydrique diminue significativement pendant le développement du fruit, en lien avec l'accumulation de solides solubles (Léchaudel *et al.*, 2013). La conductivité hydraulique mesurée dans les vaisseaux du pédoncule augmente au cours du développement du fruit, puis diminue au stade final de la croissance du fruit, suite au développement d'embolie dans les vaisseaux de xylème (Nordey *et al.*, 2015). La conductivité hydraulique dans les unités de croissance varie suivant les cultivars. Par exemple Cogshall possède la conductivité la plus élevée par rapport aux quatre cultivars étudiés, suivi d'Irwin, Kensington Pride et José, pour qui la conductivité est particulièrement faible comparée aux autres cultivars étudiés (Normand *et al.*, 2008).

## **6. Problématiques, objectifs et hypothèses associées**

### 6.1 Problématiques

L'état de l'art présenté ci-dessus nous apporte des connaissances sur l'irrégularité de production ainsi que sur les interactions entre reproduction et croissance végétative chez le manguier, qui vont nous servir de cadre d'analyse et d'axe d'orientation pour étudier les deux problématiques suivantes :

- L'irrégularité de production chez le manguier peut-elle être analysée grâce aux interactions entre reproduction et croissance végétative, de manière dynamique et spatiale, en mobilisant le concept des coûts de la reproduction ?
- Quels mécanismes, trophiques, hormonaux et/ou, plus originalement, hydrauliques, sont impliqués dans les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif des axes fructifères porteurs ?

### 6.2 Objectifs et hypothèses associées

L'objectif principal est d'apporter un regard nouveau sur **l'irrégularité de production du manguier** en **mobilisant le concept des coûts de la reproduction**, et d'identifier des **mécanismes clés** contribuant à cette irrégularité.

Deux objectifs de recherche sont fixés :

### **1) Identifier, caractériser, et quantifier les coûts directs et les coûts retardés de la reproduction du manguiier**

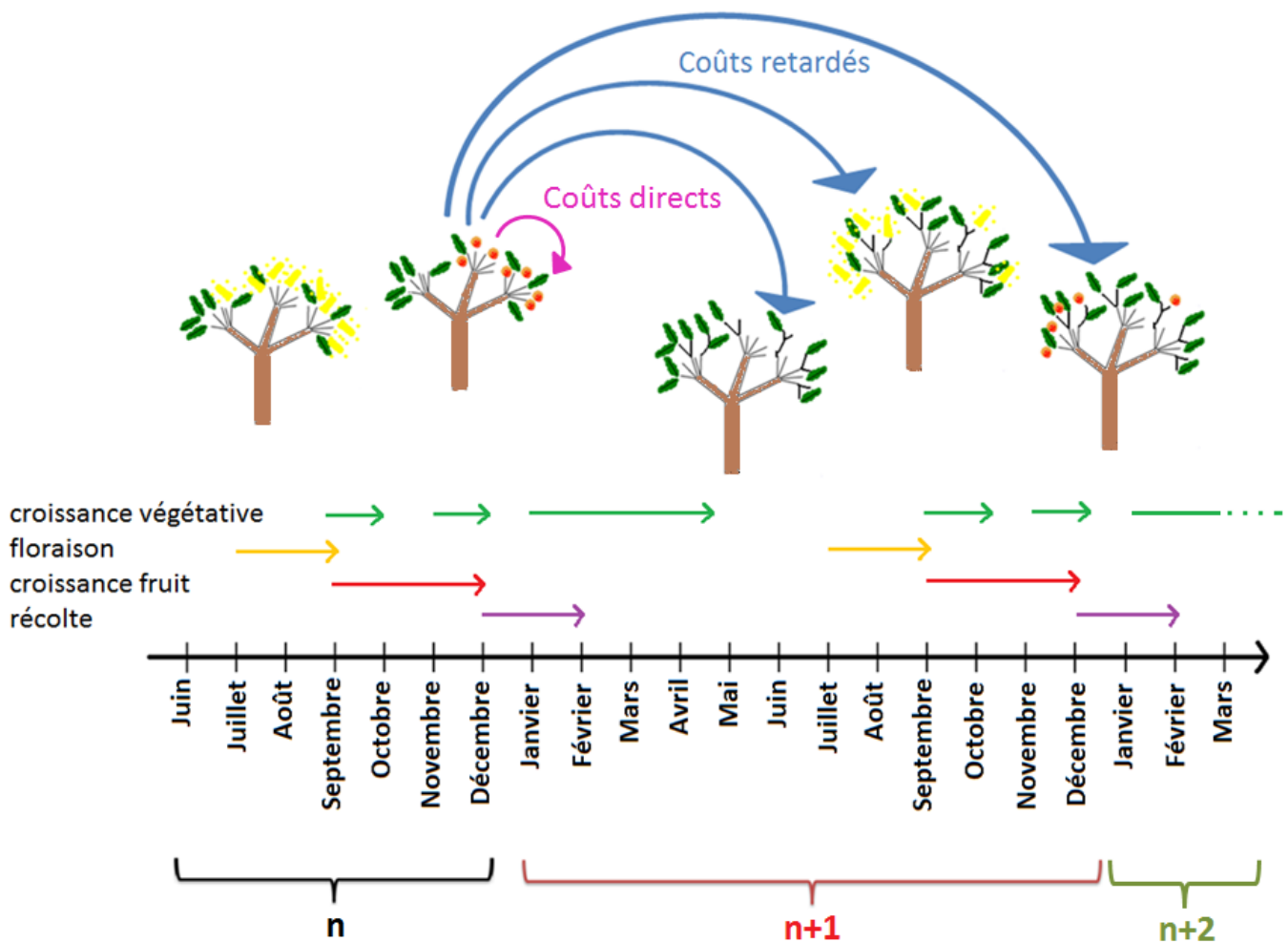
Notre hypothèse est que, d'après le concept des coûts de la reproduction, l'investissement du manguiier dans la reproduction engendre une croissance végétative réduite, porteuse de la future floraison potentielle.

Nos objectifs consistent à :

- comprendre et quantifier les interactions entre les phases de reproduction et de croissance végétative chez le manguiier en mobilisant le concept des coûts de la reproduction, et comprendre à quelles échelles spatiales et temporelles (coûts directs et/ou coûts retardés) les coûts de la reproduction opèrent ;
- identifier les étapes limitantes qui affectent la croissance végétative au cycle  $n+1$ , porteuse de la future reproduction potentielle, pouvant contribuer à l'irrégularité de production des manguiiers ;
- identifier les facteurs d'ordre architecturaux impliqués dans ces étapes limitantes.

Cela consiste à quantifier de façon dynamique les coûts de la reproduction directs (floraison et fructification au cycle  $n$ ) et retardés (débourrement végétatif, floraison et fructification au cycle  $n+1$ ) sur deux cycles de croissance (**Figure 14**), et de comprendre les rôles potentiels de la phase de reproduction et de la phase de croissance végétative qui lui succède sur l'irrégularité de production.

Pour parvenir à cet objectif, nous avons dans un premier temps caractérisé l'irrégularité de production de différents cultivars de manguiier, grâce à l'utilisation d'indices d'irrégularité de production. Cela nous a permis de sélectionner quatre cultivars possédant des patterns d'irrégularité de production différents, dans le but de les comparer au cours des études suivantes. Nous avons ensuite analysé sur ces quatre cultivars, et à plusieurs échelles spatiales (UC, branche charpentière, arbre), les relations entre la reproduction au cours du cycle  $n$  et la reproduction au cycle  $n+1$ . Pour comprendre ces relations, nous avons décomposé cette analyse en deux parties. D'une part l'analyse des relations entre la reproduction au cycle  $n$  et la croissance végétative au cycle  $n+1$ , puis l'analyse des relations entre la croissance végétative et la reproduction au cycle  $n+1$ .



**Figure 14 :** Schématisation des coûts directs (flèche rose) et retardés (flèches bleues) de la reproduction entre deux cycles de production (s'étalant sur trois années  $n$ ,  $n+1$ ,  $n+2$ ) du manguiier à la Réunion, St Pierre. Les phases phénologiques de chaque cycle sont indiquées par des flèches horizontales (croissance végétative en vert, floraison en orange, croissance des fruits en rouge, récolte en violet). Sur les arbres schématisés, les symboles jaunes correspondent aux inflorescences, les ronds rouges correspondent aux fruits, et les ellipses vertes correspondent aux feuilles.

Les premiers résultats de cette étude ont permis de mettre en évidence que la faible **probabilité de débourrement** des UCs reproductrices, par rapport aux UCs restées quiescentes, est une étape limitante affectant la croissance végétative (Capelli *et al.*, 2016). En effet, plus l'effort reproductif, i.e., l'investissement dans la reproduction, d'une UC est important, plus la probabilité de débourrement végétatif au cycle suivant est faible, et plus le nombre d'UCs et la surface foliaire mis en place au cycle suivant seront faibles. Par ailleurs, Dambreville *et al.* (2013) ont montré que le débourrement végétatif, lorsqu'il a lieu, est retardé par la nature reproductive de l'UC. Ces résultats nous ont amenés à définir un second objectif.

## 2) Identifier et analyser les mécanismes impliqués dans les coûts directs et retardés de la reproduction pouvant contribuer à l'irrégularité de production chez le manguiier

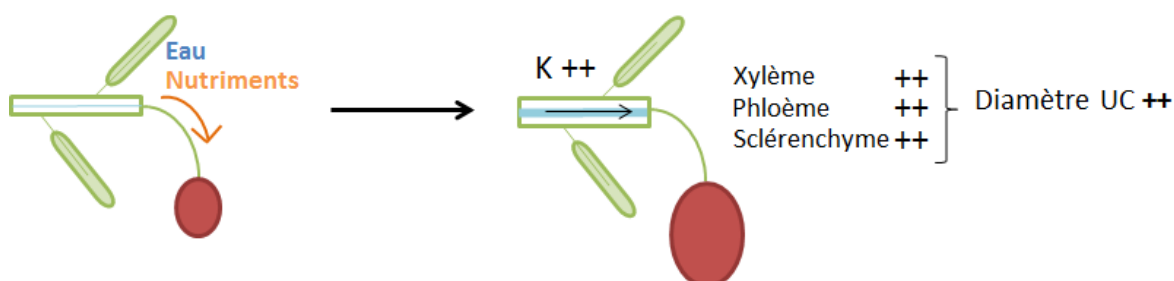
Après avoir mis en évidence que la probabilité de débourrement des UCs reproductrices est une étape limitante affectant la croissance végétative, nous avons voulu identifier et analyser les mécanismes pouvant contribuer à cette étape limitante.

*a) Déterminer les effets directs du développement de la reproduction sur la morphologie, l'anatomie et les caractéristiques hydrauliques de l'axe porteur*

Les coûts directs de la reproduction correspondent à l'investissement dans la reproduction (floraison et croissance des fruits) au cycle n (Newell, 1991). En général, les études de ces coûts directs s'intéressent à l'allocation des ressources vers les organes reproducteurs.

Dans cette thèse, nous étudions les coûts directs de la reproduction sous un autre aspect, à savoir un aspect végétatif. Nous souhaitons analyser les possibles modifications morphologiques, anatomiques et/ou des caractéristiques hydrauliques de l'axe végétatif porteur de l'inflorescence puis du fruit. On ne développe pas les investissements dans la floraison et dans les fruits car cet aspect a déjà été bien étudié.

Notre hypothèse est que la présence d'un (ou plusieurs) fruit(s) porté(s) par l'UC terminale entraîne un développement des tissus conducteurs (xylème et phloème) pour alimenter en eau, en minéraux, et en carbone le fruit en croissance, ainsi qu'un développement de tissu de soutien (sclérenchyme) pour supporter le poids des fruits (**Figure 15**). Ces modifications conduisent à une augmentation du diamètre de l'axe de l'UC (croissance secondaire).



**Figure 15 :** Représentation schématique des effets de la croissance du fruit sur la morphologie et l'anatomie de l'unité de croissance (UC) porteuse. L'hypothèse est que la croissance d'un fruit augmente (symboles « ++ ») le diamètre de l'axe de l'UC porteuse, dû au développement des tissus conducteurs d'eau et de sève élaboré (xylème et phloème), qui augmente la conductivité hydraulique de l'UC (K), et des tissus de soutien (sclérenchyme). Les rectangles verts représentent les UCs, les ovales verts représentent les feuilles, le cercle rouge représente le fruit et le trait bleu représente le système conducteur.

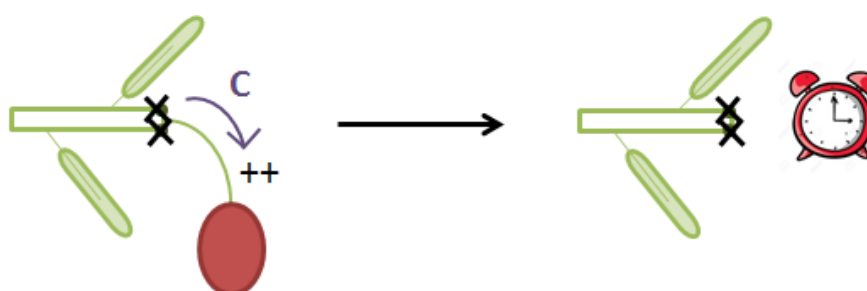
*b) Déterminer les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif*

Les coûts retardés de la reproduction correspondent aux conséquences négatives, en termes croissance végétative et reproduction, au cycle n+1 de l'investissement des ressources dans le processus de reproduction au cycle n (Newell, 1991). Nous faisons l'hypothèse que deux mécanismes peuvent être responsables de ces conséquences négatives : un mécanisme trophique, et un

mécanisme lié aux hormones. Nous cherchons à comprendre de quelle manière ces mécanismes trophiques et hormonaux peuvent contribuer aux effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif (Capelli *et al.*, 2016) et sur le retard de ce débourrement lorsqu'il a lieu (Dambreville *et al.*, 2013).

### Mécanisme trophique

Pour l'étude du mécanisme trophique, notre hypothèse est que la croissance du fruit mobilise localement les réserves carbonées dans les parties ligneuses, notamment de l'UC porteuse. Le débourrement des bourgeons végétatifs pendant la croissance des fruits peut être en conséquence inhibé par un niveau trop bas de réserves (Zapata *et al.*, 2004), ou retardé le temps de la reconstitution locale de ces réserves, même lorsque le fruit n'est plus présent sur l'UC (Piller et Meekings, 1997 ; Piller *et al.*, 1998 sur kiwi) (**Figure 16**).



**Figure 16** : Représentation schématique du mécanisme trophique. La croissance du fruit mobilise (symbole « ++ ») localement les réserves carbonées. Le débourrement des bourgeons végétatifs latéraux pendant la croissance du fruit est en conséquence inhibé (croix noires) par un niveau local trop bas de réserves, ou retardé (horloge) le temps de la reconstitution de ces réserves. Les rectangles verts représentent les unités de croissance, les ovales verts représentent les feuilles, le cercle rouge représente le fruit, et les points vert foncé représentent les bourgeons latéraux. La flèche violette représente les flux de carbone (C).

### Mécanisme hormonal

Dans les études sur l'irrégularité de production des fruitiers tempérés, les hypothèses hormonales généralement avancées sont que certaines hormones, notamment l'auxine et les gibbérellines, issues des fruits en croissance, inhibent l'induction florale pour le cycle suivant (Monselise et Goldschmidt, 1982 ; Bernier *et al.*, 1993). Sur manguier en revanche, l'induction florale se déroulant juste avant le débourrement des inflorescences, il n'y a pas d'effet direct de la présence de fruits sur l'induction florale. Les études hormonales sur l'irrégularité de production se focalisent principalement sur les hormones responsables de l'initiation florale.

Le mécanisme hormonal que l'on se propose d'étudier est différent de celui étudié en général puisque l'on s'intéresse à l'effet de la reproduction (floraison puis fructification) sur le débourrement végétatif et non pas sur l'induction florale. Nous supposons que l'embryon dans le fruit en croissance communique avec la plante de façon hormonale, libérant des hormones, notamment de l'auxine, qui inhibent la croissance végétative (**Figure 17**). Nous supposons que lorsqu'on retire le fruit, on retire également la source d'hormones ; l'effet inhibiteur est alors rapidement supprimé. Monselise et Goldschmidt (1982) signalent que dans certains cas, les graines présentes dans les fruits exercent des effets d'inhibition sur la production de bourgeons (pommier) ou induisent une abscission des bourgeons (pistachier). De plus, sur le manguier, Davenport *et al.* (2007) posent l'hypothèse que



l'initiation de la croissance végétative est principalement régulée par le ratio auxine/cytokinines. La présence du fruit pourrait modifier localement ce ratio par la libération d'auxine, affectant alors négativement le débourrement végétatif.



**Figure 17 :** Représentation schématique du mécanisme hormonal. L'embryon dans le fruit en croissance libère des hormones (H) qui inhibent (croix noires) le débourrement des bourgeons végétatifs pendant la croissance du fruit. Les rectangles verts représentent les UCs, les ovales verts représentent les feuilles, le cercle rouge représente le fruit, et les points vert foncé représentent les bourgeons latéraux.

Pour compléter ces études, une quantification de l'activité de certains gènes responsables de la synthèse, de la perception ou de la signalisation de certaines hormones, de la signalisation du saccharose, ainsi que des gènes de ramification, a été effectuée lors d'un séjour en Australie d'août à octobre 2015. L'expérimentation a été effectuée au sein du Queensland Department of Agriculture, Fisheries and Forestry à Mareeba dans l'équipe dirigée par Ian Bally (<https://www.daf.qld.gov.au/>) et au sein du laboratoire Plant Development Lab de l'université du Queensland à Brisbane dans l'équipe dirigée par Christine Beveridge (<https://plantdevelopmentlab.wordpress.com/>).

Nous avons travaillé à l'échelle des organes (bourgeons apicaux et latéraux, entre-nœuds, inflorescences, pulpe et embryon de fruits) pendant la floraison et la croissance des fruits, pour analyser plus finement les mécanismes hormonaux et trophiques étudiés, et leurs effets sur le débourrement végétatif.



### **III. Matériels et Méthodes**



---

### III. Matériels et Méthodes

---

Une importante partie du « Matériels et Méthodes » a été décrite et rédigée dans la partie « Résultats » de ce mémoire, correspondant aux articles scientifiques. Ici nous ne présenterons que les parties non décrites dans les « Résultats », correspondant par exemple à la présentation plus détaillée des cultivars étudiés, le dispositif des parcelles d'expérimentation, et les bases de données utilisées.

#### 1. Mise en place des expérimentations

##### A. Cultivars étudiés

Mon travail de thèse s'est principalement porté sur quatre cultivars : Cogshall, José, Irwin et Kensington Pride.

**Cogshall (Photo 5)** est un cultivar monoembryonné originaire de Floride (Knight *et al.*, 2009). L'arbre est moyennement vigoureux avec une canopée dense. Cogshall répond aux critères de calibre, forme et couleur exigés pour l'exportation, puisque le fruit est oblong, jaune-vert-rouge à maturité (**Photo 9.A**), à chair orangée et pèse en moyenne 350g (Knight *et al.*, 2009). C'est le seul cultivar de mangue exporté depuis la Réunion (Hoarau *et al.*, 2009). Son succès commercial à la Réunion est principalement dû à la précocité de sa récolte qui le met à l'abri de nombreuses agressions par les bio-agresseurs (mouches des fruits, anthracnose, bactériose) et des dépressions tropicales de saison des pluies (Vincenot, 2009). Ce cultivar est toutefois sensible à l'oïdum et à la sécheresse. Il n'est cultivé qu'à la Réunion, où son irrégularité de production est assez marquée (Vincenot, 2004).



**Photo 5** : Manguier, cultivar Cogshall. © Mathilde Capelli.

**José (Photo 6)** est un arbre peu vigoureux à canopée ouverte originaire de la Réunion. Il existe plusieurs clones de ce cultivar monoembryonné : Petite José, Moyenne José, José Royale...

(Agronews Réunion, 2009). Cette mangue de couleur jaune-verte (**Photo 9.B**) d'environ 250g est en général très appréciée par les consommateurs Réunionnais, grâce à sa chair ferme, sucrée, juteuse et très parfumée (Vincenot, 2009). Les pertes de récoltes peuvent être importantes chez José de par sa sensibilité à l'antracnose et à la cécidomyie des fleurs, d'autant plus qu'une grande partie de la production se récolte en période cyclonique. La floraison est souvent asynchrone, avec jusqu'à trois floraisons successives par arbre au cours d'un même cycle, ce qui accentue l'étalement des récoltes. José n'est cultivé qu'à la Réunion, où son irrégularité de production est très marquée (Vincenot, 2004).



**Photo 6** : Manguier, cultivar José. ©Mathilde Capelli

**Irwin (Photo 7)** provient d'un semis du cultivar Lippens réalisé en 1939 par F.D. Irwin à Miami (Campbell, 1992). Ce cultivar monoembryonné est cultivé dans de nombreux pays producteurs (Australie, Taïwan, Puerto Rico, Espagne, Guadeloupe, Costa Rica...). L'arbre présente une vigueur moyenne, avec une canopée ouverte. Les fruits sont de couleur rouge-orangée (**Photo 9.C**) à chair jaune, et leurs poids moyen est de 300g (Knight *et al.*, 2009). La production précoce à semi-précoce est abondante, mais le fruit se conservant mal, il doit être écoulé rapidement sur les marchés. Il n'est pas cultivé ni commercialisé à la Réunion. C'est un cultivar assez rustique, peu sensible aux maladies, sauf la bactériose et l'antracnose (Vincenot, 2009). Sa production est régulière chaque année, notamment à la Réunion (Campbell, 1992 ; Vincenot, 2004).



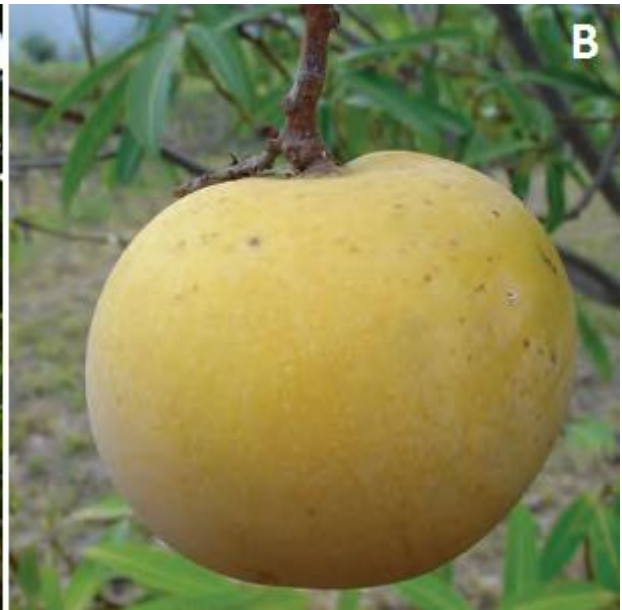
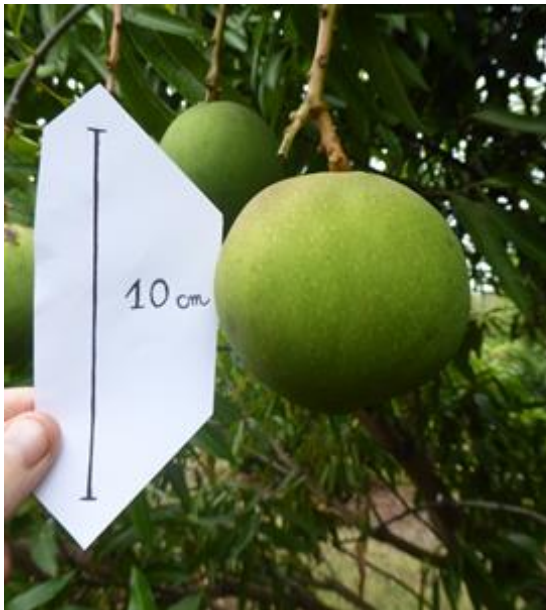
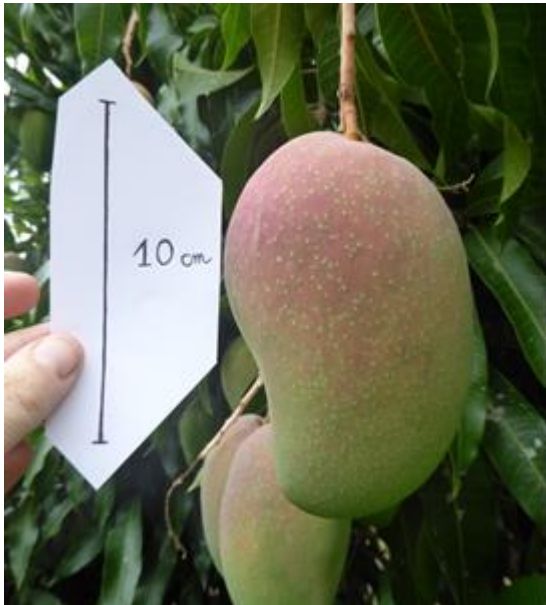


**Photo 7** : Manguier, cultivar Irwin. © Mathilde Capelli

**Kensington Pride (Photo 8)** a été sélectionné au Queensland en Australie vers 1860, à partir de graines de manguier provenant d'Inde. C'est un cultivar polyembryonné qui est intensivement cultivé en Australie où il occupe plus de 80% des vergers (Bally *et al.*, 1999). Il a été introduit à la Réunion par le Cirad en 2000. C'est un cultivar très vigoureux, produisant des arbres de grandes dimensions avec une canopée dense. Le fruit jaune tacheté de rose-rouge (**Photo 9.D**), d'environ 450g, très juteux et sucré au parfum de carotte et d'abricot, est parmi les plus précoces en Australie (Knight *et al.*, 2009). Cependant, en plus d'être sensible à différentes maladies, comme l'antracnose et la bactériose, ce cultivar présente des problèmes d'irrégularité de production dans le nord de l'Australie (Bally *et al.*, 1999). Néanmoins, à la Réunion, il présente un potentiel agronomique intéressant en raison de sa précocité et de sa production importante et régulière chaque année (Vincenot, 2004, 2009).



**Photo 8** : Manguier, cultivar Kensington Pride. © Mathilde Capelli.







**Photos 9** : Photographies des fruits immatures (à gauche) et matures (à droite) des quatre cultivars étudiés : (A) Cogshall, (B) José, (C) Irwin et (D) Kensington Pride. © Mathilde Capelli, Frédéric Normand et Didier Vincenot.

Ces quatre cultivars ont été greffés sur le cultivar **Maison rouge**. Ce cultivar d'origine Mauricienne se multiplie fidèlement par semis grâce à sa polyembryonie. Les embryons nucellaires, homogènes génétiquement, sont sélectionnés visuellement. Il est cultivé essentiellement pour ses qualités de porte-greffe du fait de son enracinement pivotant. Celui-ci assure un excellent ancrage et une bonne résistance aux vents cycloniques (Vincenot, 2004).

Nous nous sommes intéressés à ces quatre cultivars car ils possèdent des caractéristiques architecturales, morphologiques et d'irrégularité de production différentes (**Tableau 3**).

**Tableau 3** : Caractéristiques des différents cultivars de manguier étudiés : Cogshall, José, Irwin et Kensington Pride (Campbell, 1992 ; Vincenot, 2004).

Cultivar	Origine	Port	Vigueur	Précocité	Irrégularité	Production
<b>Cogshall</b>	Floride	En boule, dense	Modérée	Précoce	Irrégulier	Forte
<b>José</b>	Réunion	Canopée peu dense et ouverte	Modérée	Mi-saison	Très irrégulier	Moyenne
<b>Irwin</b>	Floride	Canopée moyennement dense et ouverte	Modérée	Précoce	Régulier	Moyenne
<b>Kensington Pride</b>	Australie	En boule, dense, grande dimension	Forte	Précoce	Assez régulier	Très forte

## B. Parcelles d'étude

Les données utilisées dans le cadre de cette thèse proviennent d'expérimentation menées sur deux parcelles expérimentales, l'une sur la station du Cirad de **Bassin Martin** (21°31'S, 55°51'E, altitude : 285 m) et l'autre sur la station de **Bassin Plat** (21°19'S, 55°29'E, altitude : 125 m) à Saint Pierre sur l'île de la Réunion (**Figure 18**).



**Figure 18** : localisation de Saint Pierre sur l'île de la Réunion. © Google Images.

**Bassin Martin** : Le verger expérimental était installé sur la station de Bassin Martin, à l'Est de Saint-Pierre (**Photo 10**). Il a été mis en place en mai 2001 et arraché en 2011. C'était une parcelle d'évaluation variétale, et comportait huit cultivars, Cogshall, José, Irwin, Kensington Pride, Kent, Nam Doc Maï, Tommy Atkins et Sensation, répartis selon un dispositif en deux blocs complets. Chaque bloc était composé de sept arbres par cultivars, plantés sur une même ligne. Une irrigation par

goutte à goutte était réalisée tous les jours de la nouaison, en fin de saison fraîche, au début de la saison des pluies, i.e., de septembre à janvier durant une heure. Des traitements phytosanitaires classiques ont été utilisés dans cette parcelle. En revanche, les arbres de cette parcelle n'ont pas été taillés pour pouvoir étudier leur développement et production naturels.

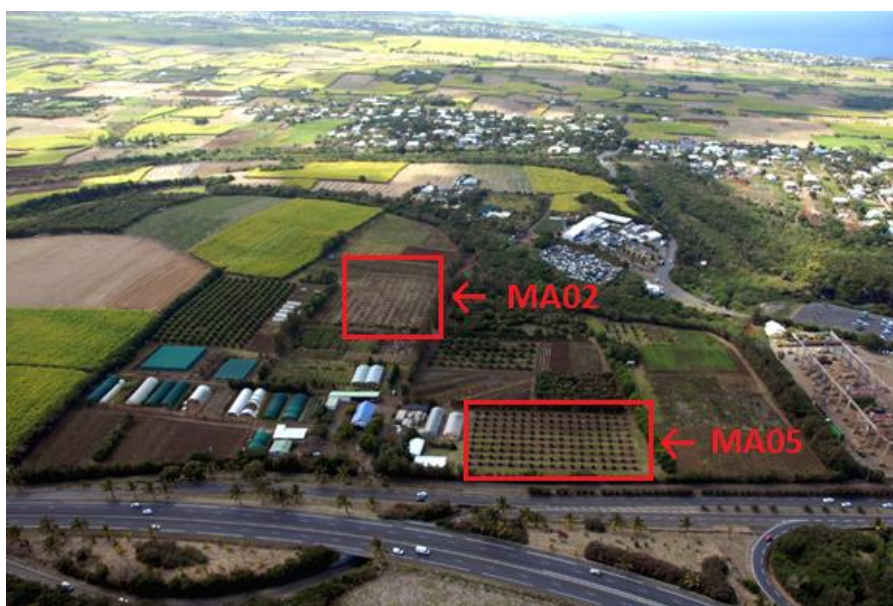


**Photo 10** : Bassin Martin à Saint Pierre, Réunion. © randoreunion.fr.

**Bassin Plat** : Les expérimentations de ma thèse ont été conduites sur deux parcelles de la station de Bassin Plat, à l'Est de Saint-Pierre (**Photo 11**).

- **MA05** est une parcelle de 153 arbres du cultivar Cogshall répartis en 9 lignes de 17 arbres, avec une distance de plantation de 6m entre les rangs et 4m sur le rang. Cette parcelle a été mise en place en 2004, avec une première production en 2007. Les arbres avaient donc 9 ans en début d'étude.

- **MA02** est une parcelle d'évaluation variétale comprenant 10 cultivars, les huit cultivars de la parcelle de Bassin Martin, ainsi que deux autres cultivars (Caro et Heidi), avec 13 arbres par cultivar, plus des arbres en bordures non suivis dans l'essai. Les cultivars sont disposés en randomisation totale en 11 lignes de 17 arbres, avec une distance de plantation de 6m entre les rangs et 6m sur le rang. Cette parcelle a été mise en place en 2007. Les arbres avaient donc 6 ans en début d'étude.



**Photo 11** : 12 hectares de parcelles expérimentales de la station du Cirad de Bassin Plat à St Pierre, Réunion. MA02 et MA05 correspondent aux parcelles de manguiers. © P. Cao-Van, Cirad.



L'altitude de la parcelle de Bassin Martin est de 285 m, tandis que l'altitude des deux parcelles de Bassin plat est de 125 m. La région de Saint-Pierre est ventée et a une température moyenne annuelle de 20°C, avec des températures légèrement plus fraîches à Bassin Martin du fait de l'altitude. Le taux d'ensoleillement y est très fort, entre 2600 et 3000 heures par an. La pluviométrie moyenne annuelle est d'environ 1000mm, avec des pluies un peu plus importantes à Bassin Martin qu'à Bassin Plat. Il y a une alternance de saison sèche où la pluviométrie est inférieure à 100mm (de mai à novembre) et de saison humide (de janvier à mars). Les sols sont issus de coulées basaltiques du Piton de la Fournaise. Ces sols ferralitiques à texture argileuse présentent une surface peu caillouteuse (Raunet, 1991). La parcelle d'essai est située dans une zone favorable à la culture du manguier, puisqu'elle se trouve à moins de 400m d'altitude, et avec une pluviométrie inférieure à 1500mm, ce qui limite les problèmes phytosanitaires, mais nécessite tout de même une irrigation d'appoint pendant la croissance des fruits.

## 2. Collecte et analyse des données

### A. Indices d'irrégularité de production

L'objectif de cette étude est de calculer des indices d'irrégularité de production à l'échelle de l'arbre pour différents cultivars, dans le but de sélectionner ceux sur lesquels travailler par la suite. On souhaite obtenir une diversité du caractère irrégulier des cultivars pour pouvoir les comparer.

Pour calculer ces indices d'irrégularité de production, nous avons à disposition des jeux de données provenant de la parcelle de Bassin Martin présentée ci-dessus avec huit cultivars sur les huit premières années de production.

Dans ce jeu de données, nous disposons pour chaque arbre et pour chaque année :

- du nombre de fruits ;
- du poids de chaque fruit ;
- du poids moyen des fruits (poids fruits/nombre de fruits) ;
- des dates de début, milieu et de fin de récolte fruits.

L'évolution du nombre et du poids total des fruits a été tracée pour chaque arbre au cours des huit premières années de production. Pour étudier les tendances de production des arbres au cours du temps, des régressions linéaires par la méthode des moindres carrés ont été ajustées, et leur coefficient ( $r^2$ ) ainsi que leur niveau de significativité (P-value) ont été calculés pour chaque arbre.

Plusieurs indices d'irrégularité et d'alternance de production, proposés par Durand *et al.* (2013) et présentés précédemment (Chapitre I. 1. B), ont ensuite été calculés pour chaque arbre sur toute la période de production étudiée :

- l'indice BBI
- l'indice BBI\_norm
- l'indice BBI\_res\_norm,
- le coefficient  $\gamma$

Les indices BBI et BBI\_norm ne considèrent pas la tendance de production. En revanche, l'indice BBI\_res\_norm et le coefficient  $\gamma$  la considèrent car ils sont basés sur les résidus des ajustements.

Tous ces indices sont calculés dans le but de les comparer et d'évaluer ainsi l'effet de la prise en compte de la tendance dans les valeurs des indices. L'étude des relations entre les différentes versions du BBI montre qu'ils sont bien corrélés. Nous avons alors choisi de retenir le BBI\_res\_norm car il considère la tendance, qui est importante pour ces jeunes arbres entrant en production. Des comparaisons des valeurs BBI\_res\_norm, et des valeurs du coefficient  $\gamma$ , entre les cultivars ont été effectuées dans le but de réaliser plusieurs groupes de cultivars.

## B. Base de données Doralice : croissance et reproduction

### a) Mise en place de la base

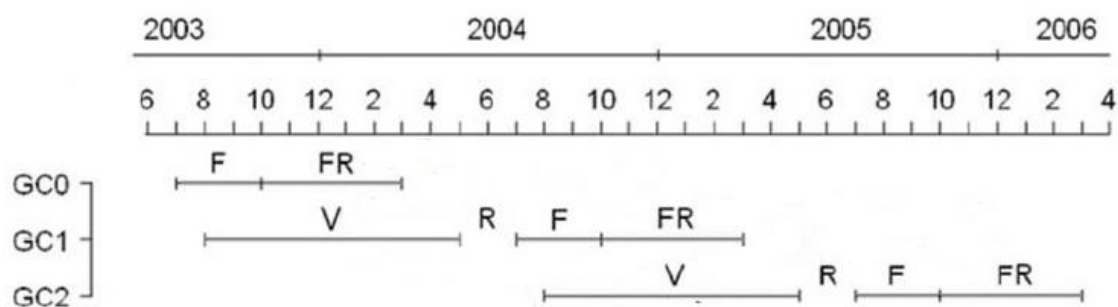
L'étude de cette base de données dans le cadre de ma thèse est d'identifier, de caractériser et de quantifier les coûts directs et les coûts retardés de la reproduction. Pour ce faire, nous avons étudié les relations entre la reproduction au cours d'un cycle (R1) et la reproduction au cycle suivant (R2) ( $R1 \rightarrow R2$ ), ainsi que les relations entre reproduction et croissance végétative (V) ( $R1 \rightarrow V$  et  $V \rightarrow R2$ ), sur quatre cultivars de manguiers et à différentes échelles spatiales, l'arbre, la branche charpentière et l'unité de croissance.

La collecte des données pour de cette base « Doralice » a eu lieu de 2003 à 2006 et avait pour objectif principal d'étudier l'effet de facteurs endogènes architecturaux sur la croissance végétative et la reproduction du manguiers.

Elle contient une description exhaustive, à l'échelle de l'unité de croissance, de la croissance végétative, de la floraison et de la fructification de 35 jeunes manguiers entre juin 2003 et mars 2006, correspondant aux trois premiers cycles de production, sur la parcelle d'évaluation variétale de Bassin Martin. Les données ont été collectées sur sept cultivars (ceux présents sur la station excepté Sensation), avec cinq arbres par cultivar. Pour cette thèse, nous avons travaillé sur les quatre cultivars décrits précédemment, Cogshall, José, Irwin et Kensington Pride, choisis sur leur caractère irrégulier.

La période étudiée correspond à trois phases reproductives et deux phases de croissance végétative, soit 2.5 cycles de production (**Figure 19**) :

- la reproduction du cycle 2003/2004, qui correspond à la première floraison d'importance et au début de la production de ces arbres de juillet 2003 à mars 2004 ;
- le cycle complet 2003/2005, d'août 2003 à mars 2005 ;
- le cycle complet 2004/2006, d'août 2004 à mars 2006.



**Figure 19** : Succession temporelle de trois cycles de production (GC0, GC1 et GC2) du manguiier à la Réunion (Cogshall à Saint Pierre) de juin 2003 à avril 2006. Chaque GC est composé d’une succession de période de croissance végétative (V), de repos (R), de floraison (F) et de fructification (FR). (Capelli *et al.*, 2016).

Parmi les cinq arbres suivis par cultivar, deux ont été éclaircis par retrait de tous les fruits formés juste après la nouaison lors des cycles de production GC1 et GC2, en octobre 2004 et octobre 2005. Les arbres éclaircis sont intéressants pour étudier les coûts retardés puisque les coûts directs de la reproduction sont presque nuls sur ces plants (développement des inflorescences mais pas des fruits). Ils représentent donc des témoins, et nous permettent comparer les coûts de la reproduction entre des arbres n’ayant pas fructifiés (coûts de la reproduction nuls) et des arbres ayant fructifiés (coûts de la reproduction élevés).

Au cours de ces deux cycles de production, la croissance végétative et reproductrice de chaque arbre a été suivie de façon exhaustive par un suivi hebdomadaire. Pour chaque UC apparue, ont été notés :

- sa position vis-à-vis de l’UC précédente : apicale (provenant du bourgeon apical de l’UC mère) ou latérale (provenant d’un bourgeon latéral de l’UC mère) ;
- son mois d’apparition ;
- le diamètre à la base de l’axe portant les nouvelles UCs apparues au cours de la saison de croissance végétative, d’août à mai ;
- sa nature : végétative (V si elle ne fleurit pas au moment de la saison de floraison-fructification), florifère (F) ou fructifère (FR).

Au moment de la floraison ont été notés pour chaque UC ayant fleuri :

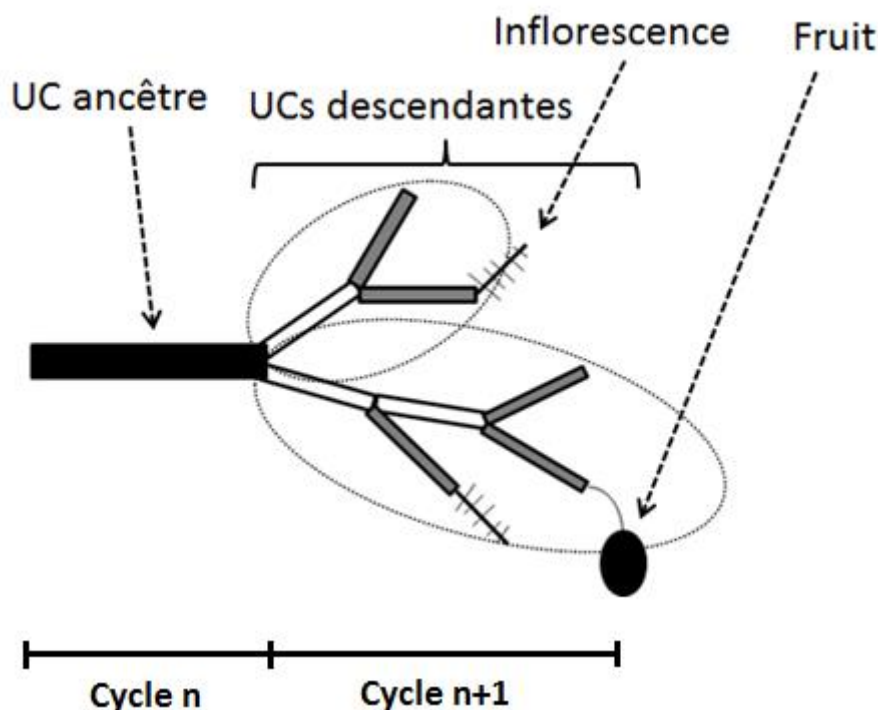
- la date d’apparition des inflorescences ;
- le nombre d’inflorescences produites.

Au moment de la récolte ont été notés pour chaque UC fructifère :

- le nombre de fruits portés ;
- le poids de chaque fruit ;
- les dates de récolte de chaque fruit.

Des termes de généalogie, décrits par Dambreville *et al.* (2013), sont utilisés pour décrire la succession entre les UCs. La dernière UC développée au cours d’un cycle qui se trouve en position terminale au cours de la floraison et est susceptible de fleurir est appelée l’ « UC ancêtre ». Les

nouvelles UCs produites au cours du cycle suivant à partir de cette UC ancêtre sont appelées « UCs descendantes ». Toutes les UCs descendantes provenant d'un même bourgeon de l'UC ancêtre au cours d'un cycle forment un axe éventuellement plus ou moins ramifié. Parmi les UCs descendantes, celles en position terminale à la fin de la saison de croissance végétative sont susceptibles de fleurir et de fructifier au cours du cycle. Les UCs descendantes en position terminale au cours d'un cycle correspondent aux UCs ancêtres pour le cycle suivant (**Figure 20**).



**Figure 20** : Schématisation d'une succession d'unités de croissance (UCs). L'UC ancêtre est représentée par un rectangle noir, et les UCs descendantes par des rectangles gris (UCs terminales) ou blancs (UCs non terminales). Les feuilles ne sont pas représentées. Les symboles en arêtes de poissons représentent les inflorescences, et l'ovale noir représente un fruit. Dans ce schéma, une UC ancêtre a produit huit UCs descendantes, réparties en deux axes, encadrés par des ellipses en pointillés. Le premier comporte trois UCs et le second comporte cinq UCs. D'après Capelli *et al.* (2016).

#### b) Exploitation de la base

L'analyse de cette base de données nous permet de quantifier plusieurs variables, à l'échelle de l'UC ancêtre, qui caractérisent la croissance végétative et la reproduction, qui nous serviront ensuite pour étudier de manière quantitative et temporelle les relations  $R1 \rightarrow R2$ ,  $R1 \rightarrow V$  et  $V \rightarrow R2$ .

R1 est quantifiée par la nature de l'UC ancêtre, considérée comme un gradient de l'effort reproducteur depuis la croissance végétative (V, pas de coût de la reproduction), à la floraison (F, coûts de la reproduction intermédiaires) et la fructification (FR coûts élevés de la reproduction).

V et R2 sont quantifiées par les variables suivantes.

Variables caractérisant la croissance végétative au cycle n+1 (V):

- La probabilité de débourrement de l'UC ancêtre au cycle n : probabilité qu'une UC ancêtre du cycle n donne au moins une UC descendante au cycle n+1.
- Le nombre d'UCs descendantes : nombre d'UCs descendantes produites au cycle n+1 par une même UC ancêtre du cycle n.
- Le nombre d'axes : nombre d'axes produits au cycle n+1 à partir d'une UC ancêtre du cycle n.
- Le nombre d'UCs en position terminale à la fin de la période de croissance végétative du cycle n+1, susceptibles de fleurir ou de porter une autre UC au cycle n+1.
- La surface foliaire, la biomasse des UCs, la biomasse totale de chaque axe apparu au cycle n+1. Ces variables sont estimées par des relations allométriques (Normand et Lauri, 2012) à partir de la mesure du diamètre réalisée à la base de chaque axe au moment du repos végétatif.

#### Variables caractérisant la reproduction au cycle n+1 (R2) :

- Le nombre d'UCs terminales florifères.
- Le nombre d'UCs terminales fructifères.
- Le taux d'UCs terminales florifères : nombre d'UCs florifères/nombre total d'UCs terminales.
- Le taux d'UCs terminales fructifères : nombre d'UCs descendantes fructifères/nombre total d'UCs terminales descendantes.
- Le taux de fructification : nombre d'UCs descendantes fructifères / nombre d'UCs descendantes florifères.
- Le nombre et le poids de fruits.

Ces variables ont ensuite été agrégées à l'échelle de la branche charpentière, et à l'échelle de l'arbre.

## C. Identification de mécanismes impliqués dans les coûts de la reproduction

### *a) Effets de la reproduction sur l'anatomie, les caractéristiques hydrauliques, et les teneurs en sucres et en hormones des UCs porteuses (Réunion)*

L'identification des mécanismes impliqués dans les coûts de la reproduction nous permet d'étudier, à l'échelle de l'unité de croissance, les effets négatifs de la reproduction sur la croissance végétative, potentiellement impliqués dans l'irrégularité de production.

Deux études ont donc été effectuées : l'étude (1) correspondant aux effets de la reproduction sur l'anatomie et les caractéristiques hydrauliques des UCs porteuses, et l'étude (2) correspondant aux dosages de sucres et d'hormones sur les UCs porteuses.

Pour ces deux études, nous avons travaillé sur deux cultivars, Cogshall et José. En plus d'être les deux cultivars les plus cultivés à la Réunion et pour lesquelles le Cirad a le plus de références, ils ont des patterns et des intensités d'irrégularité de production différents. Des UCs de différentes natures ont été prélevées à cinq dates clés du cycle de production du manguier à la Réunion, correspondant à différentes périodes phénologiques du manguier : pendant le repos végétatif (juin), pendant la floraison (septembre), au milieu de la croissance des fruits (novembre), pendant la récolte (janvier), et au moment de la croissance végétative (mars).



Pour **l'étude (1)**, deux campagnes de prélèvement ont eu lieu sur les deux parcelles de Bassin Plat présentées ci-dessus, la première durant le cycle de production 2014-2015, et la deuxième durant le cycle de production 2015-2016. Pour cette étude, nous avons travaillé sur des UCs terminales de trois natures différentes :

- UCs terminales restées quiescentes tout au long du cycle de production ;
- UCs terminales qui ont fleuri lors de la floraison, et qui ensuite ont fructifié ;
- UCs qui ont produit une nouvelle UC végétative pendant la croissance végétative.

La partie médiane des UCs échantillonnées a été directement utilisée pour les mesures de conductivité hydraulique, tandis que la partie apicale des UCs a été plongée dans un fixateur dans le but d'effectuer ultérieurement des analyses histologiques. Cinq répétitions par cultivar et par nature d'UC ont été effectuées durant la 1<sup>ère</sup> campagne de prélèvement, et 10 répétitions durant la 2<sup>nde</sup> campagne, dans le but d'augmenter le pouvoir des tests statistiques.

Pour **l'étude (2)**, une seule campagne de prélèvement a eu lieu durant le cycle de production 2014-2015, sur les deux parcelles de Bassin Plat. Pour cette étude nous avons travaillé sur des UCs terminales de cinq natures différents, les trois mêmes natures d'UCs terminales que l'étude hydraulique, ainsi que sur deux autres natures :

- UCs terminales qui ont fleuri mais qui n'ont pas fructifié ;
- UCs terminales qui ont fleuri et fructifié et dont on a retiré les fruits à la moitié de leur développement en novembre.

La partie apicale des UCs a été échantillonnée dans le but d'effectuer des dosages de sucres et d'hormones. De plus, certains organes présents sur ces UCs ont également été échantillonnés : inflorescences, pédoncules, noyaux et pulpe des fruits lorsqu'ils étaient présents. Trois et cinq répétitions par cultivar et par nature d'UCs ont été collectées pour les dosages de sucres et d'hormones, respectivement.

Ces expérimentations nous permettant d'étudier ces mécanismes ont été décrites de manière complète dans les articles correspondant (Chapitre IV. 2. A et IV. 2. B. a).

#### *b) Etude de la quantification de l'expression de gènes (Australie)*

Cette étude nous permet d'approfondir les études hormonales et trophiques, en allant plus loin dans l'identification des mécanismes impliqués dans les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif, à travers la quantification de l'expression de certains gènes.

Notre hypothèse est que le fruit en croissance synthétise des hormones, notamment un flux basipète d'auxine, et représente un puits pour les glucides, en particulier de saccharose. Le fruit joue donc un rôle dans l'inhibition et/ou le retard du débourrement végétatif au cycle suivant (Dambreville *et al.*, 2013 ; Capelli *et al.*, 2016).

Notre objectif est donc d'étudier l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la synthèse, la perception et la signalisation d'hormones, des gènes impliqués dans la signalisation des sucres, et des gènes liés à la ramification. Les gènes que nous avons sélectionnés sont : *TAR2* (synthèse d'auxine) ; *IPT5* (synthèse des cytokinines), *ARR4* et *ARR6* (signalisation des cytokinines) ; *MAX2* and *D14*

(perception des strigolactones) ; *BRC1*, *BRC2* and *DRM1* (gène de ramification et marqueurs de dormances) ; *CYCB1* et *GRF2* (marqueur de croissance) ; *bZIP11*, *bZIP44* and *ASN1* (signalisation et marqueur des sucres et plus spécifiquement du saccharose) ; *HY5* (signalisation des nutriments). Ces gènes ont différentes actions (synthèse, perception et/ou signalisation) et sont produits par différents organes à différents moments (**Encart 2**).

### **Encart 2: Genes of interest**

#### Auxin (IAA)

**TAR2** (synthesis): The **TAR2** (*TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE RELATED 2*) gene has an important role in the biosynthesis of IAA. This gene is closely related to *TAA1* (*TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASE of ARABIDOPSIS 1*). **TAA1/TAR2** is an important pathway for IAA biosynthesis (Stepanova *et al.*, 2011).

#### Cytokinins (CKs)

**IPT5** (synthesis): *IPT1*, *IPT3*, **IPT5**, and *IPT7* (ISOPENTENYL TRANSFERASE) genes are all expressed in different cell types and are expected to be important in the biosynthesis of CKs in those cells (Miyawaki *et al.*, 2004). They are expressed in roots and vegetative shoot tissues, and are involved in shoot branching. The transcriptional response of *IPT* to decapitation is consistent with the idea that IAA-mediated bud inhibition involves a reduced supply of CKs (Müller *et al.*, 2015).

**ARR4** and **ARR6** (signaling): **ARR4** and **ARR6** (ARABIDOPSIS RESPONSS REGULATOR) belong to the response regulator family, which has 23 members: 10 type-A regulators (including *ARR4*), 11 type-B regulators, and 2 others (Kakimoto, 2003). True response regulators are involved in signaling cascades in which an upstream CKs receptor kinase phosphorylates ARR on a conserved Asp residue within their receiver domain (Schaller *et al.*, 2002). Overexpression of type-A ARRs results in plants with a reduced sensitivity to CKs, whereas overexpression of type-B ARRs leads to increased CKs sensitivity (Kiba *et al.*, 2003; Tajima *et al.*, 2004).

#### Strigolactones (SLs)

**MAX2** and **D14** (perception): three of four MORE AXILLARY BRANCHES (*MAX*) proteins have been suggested to be involved in the biosynthesis of SLs from carotenoids. SL perception and signaling involves the F-box protein **MAX2**, and the hydrolase DWARF14 (**D14**) acts as an SL receptor. Authors used strong loss-of-function alleles of the *Arabidopsis thaliana* *D14* gene to characterize *D14* function from early axillary bud development through to lateral shoot outgrowth and demonstrated a role of this gene in the control of flowering time. Like *MAX2*, *D14* is required locally in the aerial part of the plant to suppress shoot branching. A mechanism of SL-induced, *MAX2*-dependent proteasome-mediated degradation of *D14*. This negative feedback loop would cause a substantial drop in SL perception, which would effectively limit SL signaling duration and intensity (Hayward *et al.*, 2009).

#### Branching and dormancy genes

**BRC1** and **BRC2**: **BRANCHED1** (*BRC1*) and **BRANCHED2** (*BRC2*) represent a key point in signals that controlling branching. *BRC1* is expressed in developing buds, where it arrests bud development. *BRC1* downregulation leads to branch outgrowth. Mutant and expression analyses suggest that *BRC1* is downstream of the *MORE AXILLARY GROWTH* pathway and that it is required for auxin-induced apical dominance. Therefore, *BRC1* acts inside the buds as an integrator of signals controlling bud

outgrowth and translates them into a response of cell growth arrest. *BRC1* and *BRC2* delay axillary meristem initiation, axillary bud development and bud outgrowth (Aguilar-Martínez *et al.*, 2007).

**DRM1:** DOMAINS REARRANGED METHYLASE genes are required for de novo DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*. The DRM1/ARP gene family is increasingly exhibiting associations with stress conditions at the transcript level. DRM1 is correlated with dormancy, and increases in transcript levels in response to various treatments have been reported in various species (Rae *et al.*, 2014).

#### Growth markers

**CYCB1** is a cyclin-dependent protein kinase and functions as an effector of growth control. This gene is involved in regulation of cell cycle, and cell growth (Eloy *et al.*, 2011).

**GR2:** GROWTH REGULATING FACTOR proteins are a family comprising nine members; they regulate various developmental processes in leaves and cotyledons in a functionally redundant manner (Kim *et al.*, 2003). Transgenic plants overexpressing *GRF1* or *GRF2* have larger leaves than wild-type plants.

#### Sucrose

**bZIP11, bZIP44** and **ASN1:** The basic leucine zipper transcription factors **bZIP11** and **bZIP44** are expressed in a light-regulated and tissue-specific way. They have a role in the control of processes associated with the transport or utilization of metabolites, and is repressed by sucrose (Wiese *et al.*, 2004). *Their expression is negatively correlated to their transcriptional activity. The ASPARAGINE SYNTHETASE1 (ASN1)* enzyme synthesizes asparagine which serves as an important nitrogen storage and transport compound and it is synthesized at night and during low-sugar conditions. When sugar levels are high the expression of the *ASN1* gene is repressed, leading to reduced levels of asparagine (Lam *et al.*, 1994). *ASN1* expression was shown to be induced by several stresses such as hypoxia and darkness, and repressed in the presence of sucrose or glucose. ASNA is the direct target of *bZIP11*, its expression informs therefore on the direct transcriptional activity of *bZIP11*. Overexpression of *bZIP11* or orthologous *bZIP* genes resulted in increased *ASN1* expression levels (Baena-Gonzalez *et al.*, 2007).

#### Nutrient signaling

**HY5** (*Long Hypocotyles 5*) is a key transcription factor in *Arabidopsis thaliana* that has a pivotal role in seedling development. *HY5* promotes photomorphogenesis in response to light signals of various wavelengths, and lack of *HY5* weakens photomorphogenic responses. *HY5* exhibits the growth-promoting activity only when sufficient nutrients, including lights, are provided, and *HY5* has a complex involvement in nitrogen acquisition and metabolism in *Arabidopsis* seedlings (Huang *et al.*, 2015).

L'étude s'est effectuée en deux parties, une partie terrain et une partie laboratoire, en Australie d'août 2015 à octobre 2015.

La première partie de cette étude a consisté en une expérimentation de terrain et aux pré-analyses biochimiques. Elle a été effectuée au sein du Queensland Department of Agriculture, Fisheries and Forestry (QDAFF) à Mareeba en Australie dans l'équipe dirigée par Ian Bally (<https://www.daf.qld.gov.au/>). L'équipe a pour projet de mieux gérer la canopée par des approches architecturales, en vue d'augmenter la productivité des vergers de manguiers. Cette partie terrain

s'est effectuée sur deux parcelles expérimentales situées sur la station South Edge (16°58'S, 145°20'E). La première parcelle comprend 104 arbres du cultivar Kensington Pride, et la seconde 48 arbres du cultivar Keitt (**Photo 12**).



**Photo 12** : Parcelle de manguiers Kensington Pride sur la station de South Edge du QDAFF à Mareeba, QLD, Australie. © Mathilde Capelli.

Nous avons travaillé sur deux cultivars présents en Australie : Kensington Pride, décrit précédemment et Keitt, un cultivar originaire de Floride, car ce sont les 1<sup>er</sup> et 4<sup>ème</sup> cultivars les plus cultivés en Australie respectivement (Knight *et al.*, 2009 ; QLD Government, 2015). De plus, ces deux cultivars possèdent des patterns d'irrégularité de production différents. Kensington Pride est très irrégulier dans le Nord de l'Australie, alors que Keitt est plutôt régulier.

De la même manière que pour les études hydraulique, trophique et hormonale, nous avons travaillé à l'échelle de l'unité de croissance terminale. Nous avons échantillonné des UCs de manguiers de natures différentes:

- UCs terminales restées quiescentes durant la saison reproductrice ;
- UCs terminales qui ont fleuri lors de la floraison ;
- UCs terminales qui ont fleuri lors de la floraison, et qui ensuite ont fructifié.

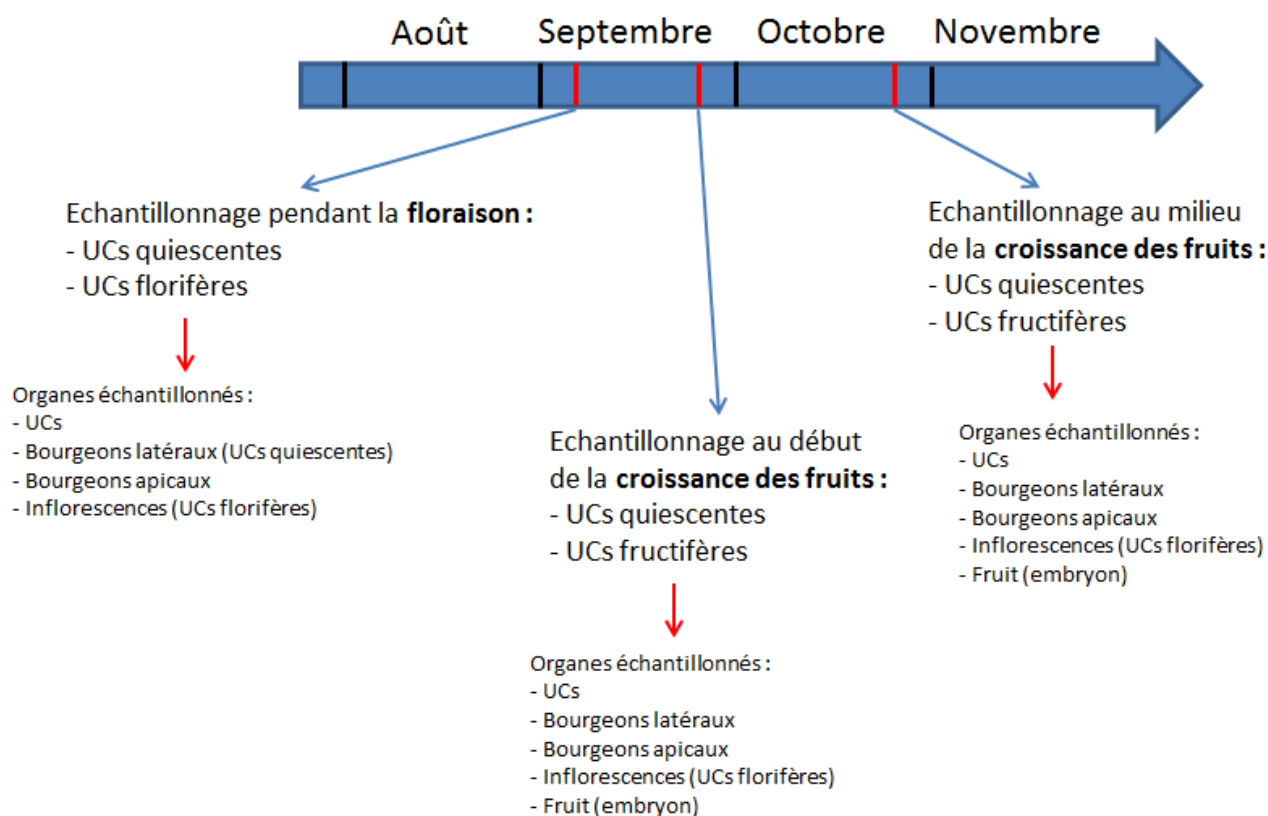
Certains organes présents sur ces UCs ont également été échantillonnés lorsqu'ils étaient présents : inflorescences, pédoncules, et embryon à l'intérieur de la graine des fruits (**Photo 13**).



**Photo 13** : Echantillonnage sur la parcelle de manguiers Keitt sur la station de South Edge du QDAFF à Mareeba, QLD, Australie. © Mathilde Capelli.

Nous avons prélevé ces UCs de natures différentes pendant la floraison (début septembre), au début de la croissance des fruits (fin septembre) et au milieu de la croissance des fruits (fin octobre) (**Figure 21**).

Les UCs quiescentes ont été prélevées aux trois dates, les UCs florifères ont été prélevées seulement au moment de la floraison, et les UCs fructifères seulement au moment de la croissance des fruits. Les différents organes ont été plongés dans de l'azote liquide directement après les prélèvements.



**Figure 21** : Protocole d'échantillonnage pour la quantification de l'activité des gènes impliqué dans le débourrement végétatif en Australie d'Août à Octobre 2016.

La seconde partie de cette étude a consisté en des analyses génétiques de dosage des transcripts des gènes ciblés dans les organes échantillonnés. Le broyage des échantillons et l'extraction de leur ARN a tout d'abord été effectué au QDAFF de Mareeba (**Photo 14**). Les échantillons broyés et congelés ont ensuite été envoyés au laboratoire Plant Development Lab de l'Université du Queensland à Brisbane dirigé par Christine Beveridge (<https://plantdevelopmentlab.wordpress.com/>). L'équipe travaille sur la compréhension du rôle des hormones végétales et des sucres dans la régulation et la coordination du développement des plantes.

Les transcripts ont été dosés par Q-PCR. Nous avons choisi d'étudier des gènes liés à l'auxine, au cytokinines, aux strigolactones, puisque ce complexe hormonal joue un rôle dans le débourrement végétatif (Ferguson et Beveridge 2009), et également des gènes liés au saccharose, un

sucre impliqué dans le débourrement (Mason *et al.*, 2014 ; Barbier *et al.*, 2015), et des gènes liés à la ramification.

Notre hypothèse est que le fruit en croissance synthétise des hormones, et représente un puits pour les glucides, en particulier de saccharose, jouant ainsi un rôle dans l'inhibition et/ou le retard du débourrement végétatif au cycle suivant (Dambreville *et al.*, 2013 ; Capelli *et al.*, 2016). Nous souhaitons donc analyser quelles hormones sont synthétisées par le fruit en croissance (auxine, strigolactones...) et de quelle manière elles sont responsables de cette inhibition dans le débourrement végétatif (par exemple via une diminution de la synthèse de cytokinines). De plus, nous souhaitons comprendre comme le fruit en croissance affecte la production et la mobilisation des glucides (amidon) et de quelle manière cette mobilisation joue sur l'inhibition, ou lorsqu'il a lieu le retard, du débourrement végétatif (gène de ramification et de dormance). Pour étudier ces effets du fruit en croissance, nous avons décidé d'étudier l'expression des gènes liés aux hormones et aux sucres à la fin de la floraison et pendant la croissance des fruits.



**Photo 14** : Laboratoire de biologie moléculaire du QDAFF à Mareeba, en Australie. © Mathilde Capelli.

Cependant, ce travail n'a pas pu être finalisé en trois mois. Le dosage des transcripts est en cours à l'Université du Queensland à Brisbane. Nous ne présenterons ici que les premiers résultats de ce travail, qui seront à la suite de ce mémoire dans la partie Résultats.

## **IV. Résultats**





---

## IV. Résultats

---

### 1. Caractérisation des coûts de la reproduction chez le manguier

Cette section est découpée en deux parties. Une est consacrée aux résultats concernant la caractérisation et la quantification de l'irrégularité de production. L'autre est consacrée à l'identification, la caractérisation et la quantification des coûts de la reproduction chez le manguier.

Les résultats de la partie A. concernent la caractérisation de l'irrégularité de production de huit cultivars de manguier à l'aide d'indices. Ils sont issus des bases de données de rendement par arbre de la parcelle de Bassin Martin, présentée dans la partie Matériels et Méthodes.

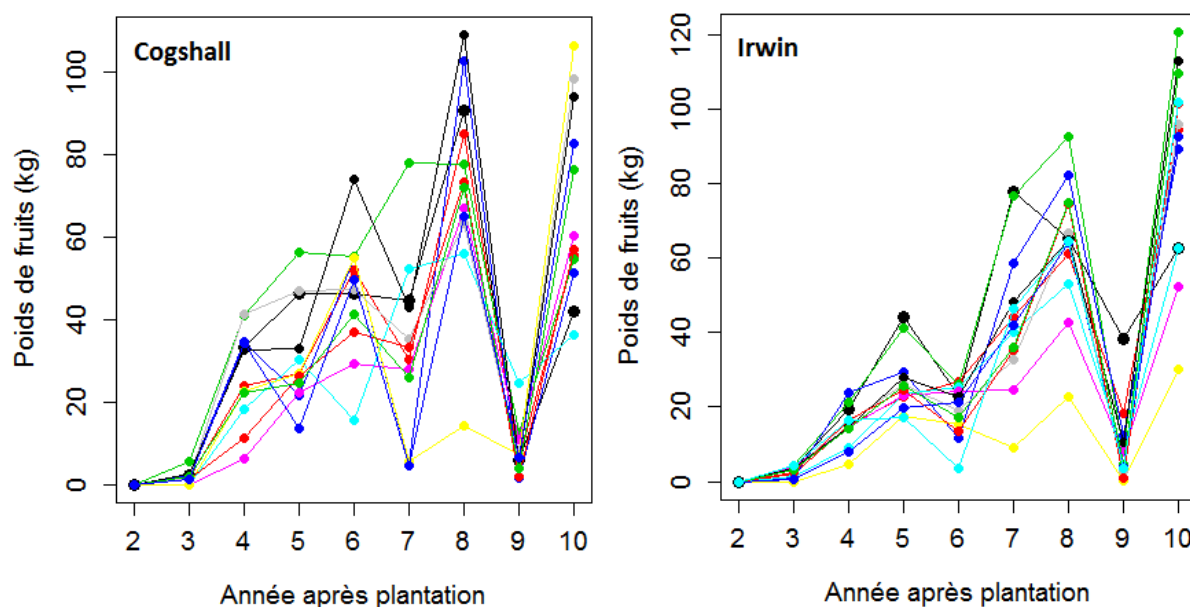
Les résultats de la partie B., divisée en trois sous-parties, a), b), c), concernent la caractérisation et la quantification des coûts de la reproduction du manguier à différentes échelles, sur différents cultivars, et au cours de plusieurs cycles de production. Ils sont issus de la base de données Doralice présentée dans la partie Matériels et Méthodes.

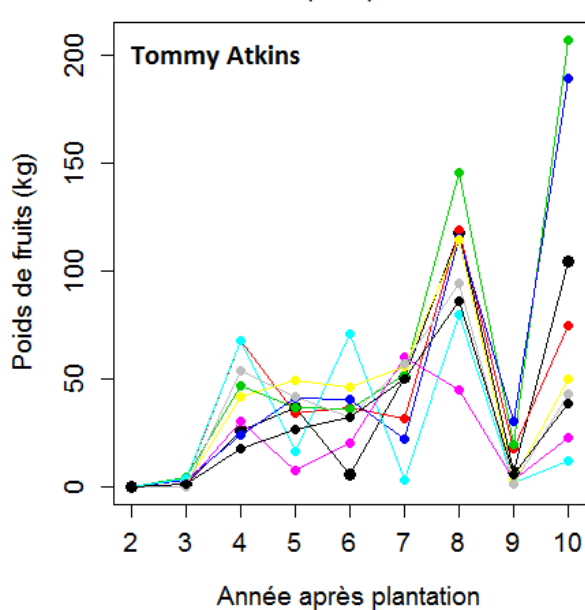
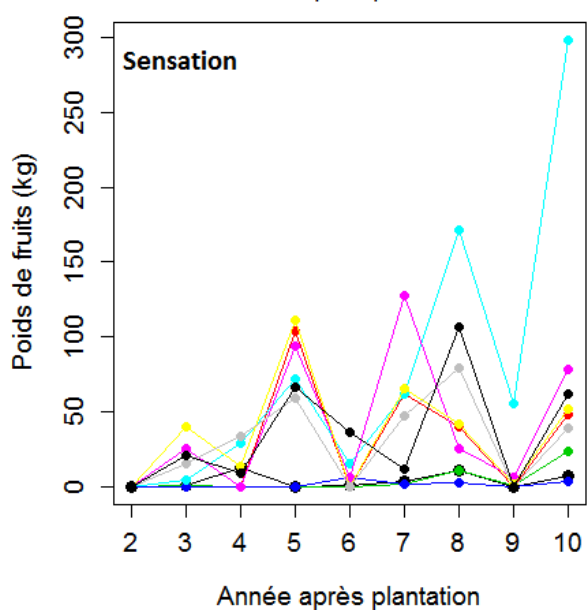
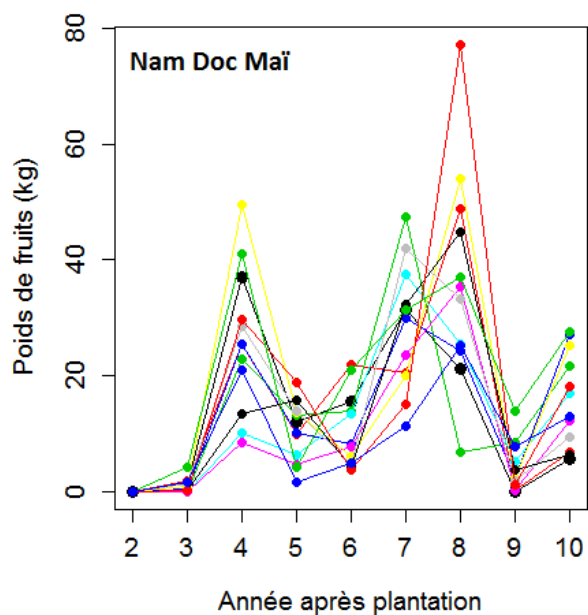
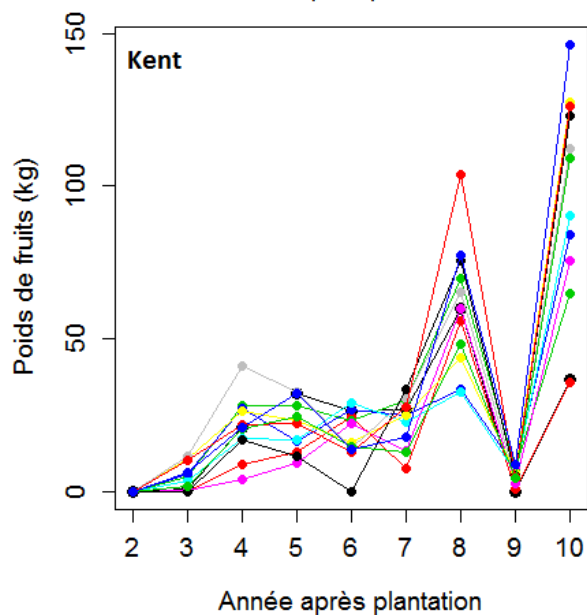
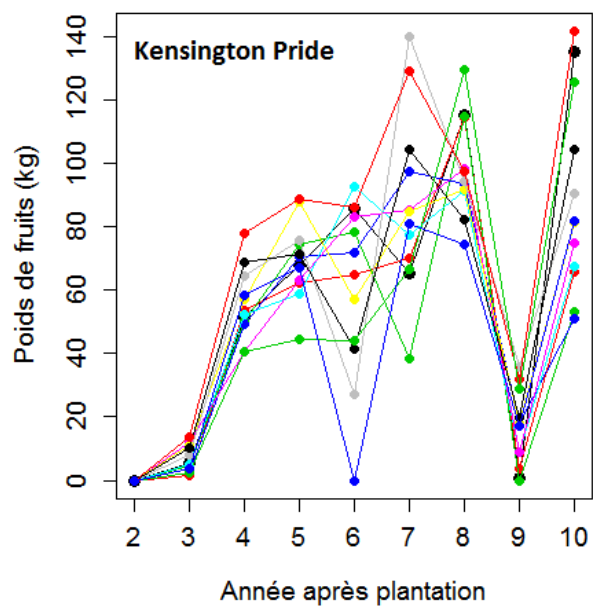
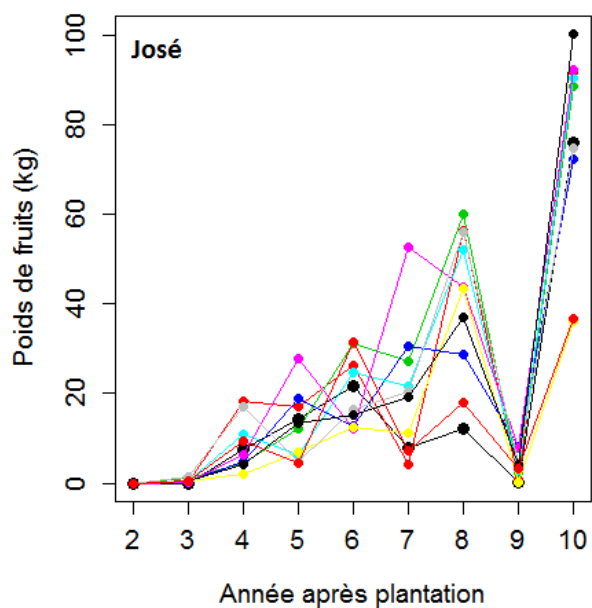
## A. Caractérisation et quantification de l'irrégularité de production de différents cultivars de manguiers

L'objectif de cette étude était de caractériser et quantifier l'irrégularité de production de différents cultivars de manguiers à l'échelle de l'arbre, à l'aide de calculs d'indices d'alternance et d'irrégularité de production. Les résultats doivent permettre d'identifier des cultivars aux comportements de production contrastés pour les travaux de cette thèse.

La production à l'échelle de l'arbre de huit cultivars de manguiers a été caractérisée par deux variables, le nombre de fruits et le poids de fruits produits par arbre et par année. Le poids des fruits était très corrélé au nombre de fruits pour chaque cultivars (coefficient de corrélation de Pearson  $r=0.94$ ,  $P<0.001$ ), car le poids des fruits variait peu en fonction de la charge du nombre de fruits par arbre. La variable 'poids des fruits' étant régulièrement utilisée pour caractériser le rendement (Pearce et Dobersek-Urbanc, 1967 ; Reddy *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2004 ; Rosenstock *et al.*, 2010 ; Cilas *et al.*, 2011, etc.), et possédant une importance économique, nous ne présenterons ici que les résultats concernant le poids de fruits, bien que les résultats concernant le nombre de fruits sont très semblables.

Nous avons tout d'abord tracé l'évolution des rendements des arbres de chaque cultivar, sur les huit premières années de production, correspondant aux années 3 à 10 après la plantation (Figure 22).





**Figure 22 :** Evolution des rendements (en kg) des arbres de huit cultivars de manguiers, Cogshall (n=12), Irwin (n=13), José (n=10), Kensington Pride (n=12), Kent (n=12), Nam Doc Maï (n=12), Sensation (n=9) et Tommy Atkins (n=9), sur huit années de production correspondant aux années 3 à 10 après la plantation. Chaque courbe représente un arbre. L'échelle des ordonnées varie entre les cultivars.

Ces graphiques nous permettent de mettre en évidence différentes évolutions globales de la production suivant les cultivars et suivant les arbres.

Pour tous les cultivars, la production des arbres augmente peu au cours de la première année de production, c'est-à-dire l'année 3 après plantation. Par la suite, des différences d'évolutions sont observées entre les cultivars, et entre les arbres pour un même cultivar. Entre les années 3 et 7 après la plantation, la production augmente lentement et régulièrement pour Irwin, José, Kent et Sensation. En revanche, une augmentation très importante est observée entre les années 3 et 4 après plantation pour tous les arbres de Kensington Pride, et pour certains arbres de Cogshall, Nam Doc Maï et Tommy Atkins.

Chez Nam Doc Maï, deux pics de production sont observés l'année 4 et l'année 8 après plantation sur la plupart des arbres. Pour tous les cultivars, une forte production est observée l'année 8 après la plantation, suivie d'une diminution drastique l'année 9 après plantation, et ce pour tous les arbres de chaque cultivar. Cette diminution n'est expliquée ni par un cyclone, ni par une cause biotique (par exemple une attaque de ravageurs). L'année suivante, correspondant à l'année 10 après la plantation, la production augmente de manière très importante pour Cogshall, José, Irwin, Kensington Pride, Kent et Tommy Atkins, et de manière plus faible pour Nam Doc Maï et Sensation.

Ces graphiques nous permettent également de mettre en évidence une forte variabilité entre les arbres pour un même cultivar, en particulier chez Cogshall, Kensington Pride et Sensation. Chez Sensation, on observe des arbres avec deux patterns de production très différents : des arbres très irréguliers en production au cours du temps, et des arbres très réguliers mais avec une production très faible chaque année. D'autres cultivars possèdent des arbres présentant des similitudes de l'évolution de leurs rendements au cours du temps, par exemple Tommy Atkins, Nam Doc Maï, Kensington Pride, Irwin et Kent.

La tendance dans les rendements est importante à prendre en compte car elle entraîne un biais dans le calcul de BBI (Huff, 2001). Or nous travaillons sur les premières années de production de jeunes arbres, on s'attend donc à une augmentation des rendements, et donc à des tendances à la hausse dans l'évolution des rendements.

Nous avons donc calculé la tendance de l'évolution du rendement au cours des 8 années pour chaque arbre par régression linéaire. L'analyse de ces tendances nous permet de visualiser comment la production de chaque arbre évolue au cours du temps, et particulièrement les premières années de production, et par conséquent de savoir quel indice il est préférable d'utiliser. S'il n'y a pas de tendance à la hausse ou à la baisse, le BBI ou le BBI\_norm peuvent être utilisés, alors que si une tendance à la hausse ou à la baisse des rendements est observée, le BBI\_res\_norm est plus adapté car il prend en compte les écarts entre les rendements observés et la tendance ajustée (Durand *et al.*, 2013). Ces ajustements linéaires nous permettent par la suite de récupérer les résidus et de calculer le BBI\_res\_norm et le coefficient  $\gamma$ .

Des différences marquées sont observées entre les évolutions de rendement des différents cultivars, et également entre les arbres pour un même cultivar (**Tableau 4, Figure 23**).

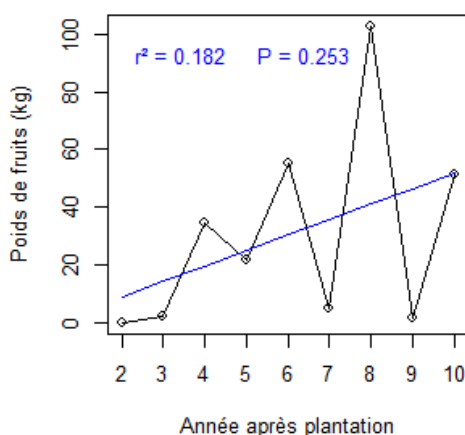
**Tableau 4** : Ajustements significatifs ( $P < 0.05$ ) des tendances de l'évolution du rendement pour chaque arbre par régression linéaire, ainsi que le total des arbres par cultivar, et la pente moyenne des ajustements significatifs pour chaque cultivars.

Cultivars	Nombre d'arbres présentant des ajustements significatifs ( $P < 0.05$ )	Total des arbres par cultivar	Pente moyenne
Cogshall	2	12	5.97
Irwin	12	13	7.85
José	6	10	7.50
Kensington Pride	1	12	13.0
Kent	5	12	8.45
Nam Doc Maï	0	12	-
Sensation	1	9	27.03
Tommy Atkins	2	9	17.41

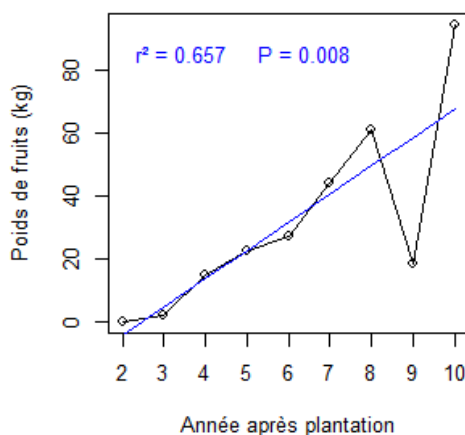
Irwin et José sont les deux cultivars dont le plus d'arbres présentent des ajustements significatifs. Au contraire, peu d'arbres présentent des ajustements significatifs chez Cogshall, Kensington Pride, Kent, Nam Doc Maï, Sensation et Tommy Atkins. Chez ces cultivars, une forte variabilité du rendement au cours du temps est observée (**Figure 23**).

Cependant, nous disposons de peu de points par arbre, et une forte variabilité est observée, ce qui explique le peu de relations significatives. De plus, l'évolution du rendement chez certains arbres n'est pas linéaire. Des ajustements logistiques à la place des ajustements linéaires pourraient être plus pertinents pour les cultivars dont la production augmente dès la seconde année de production, comme par exemple Cogshall ou Kensington Pride.

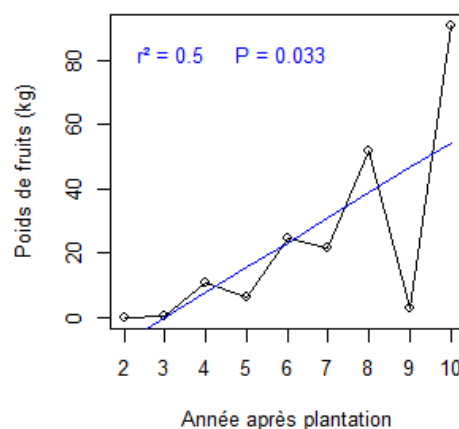
**cogshall B13**

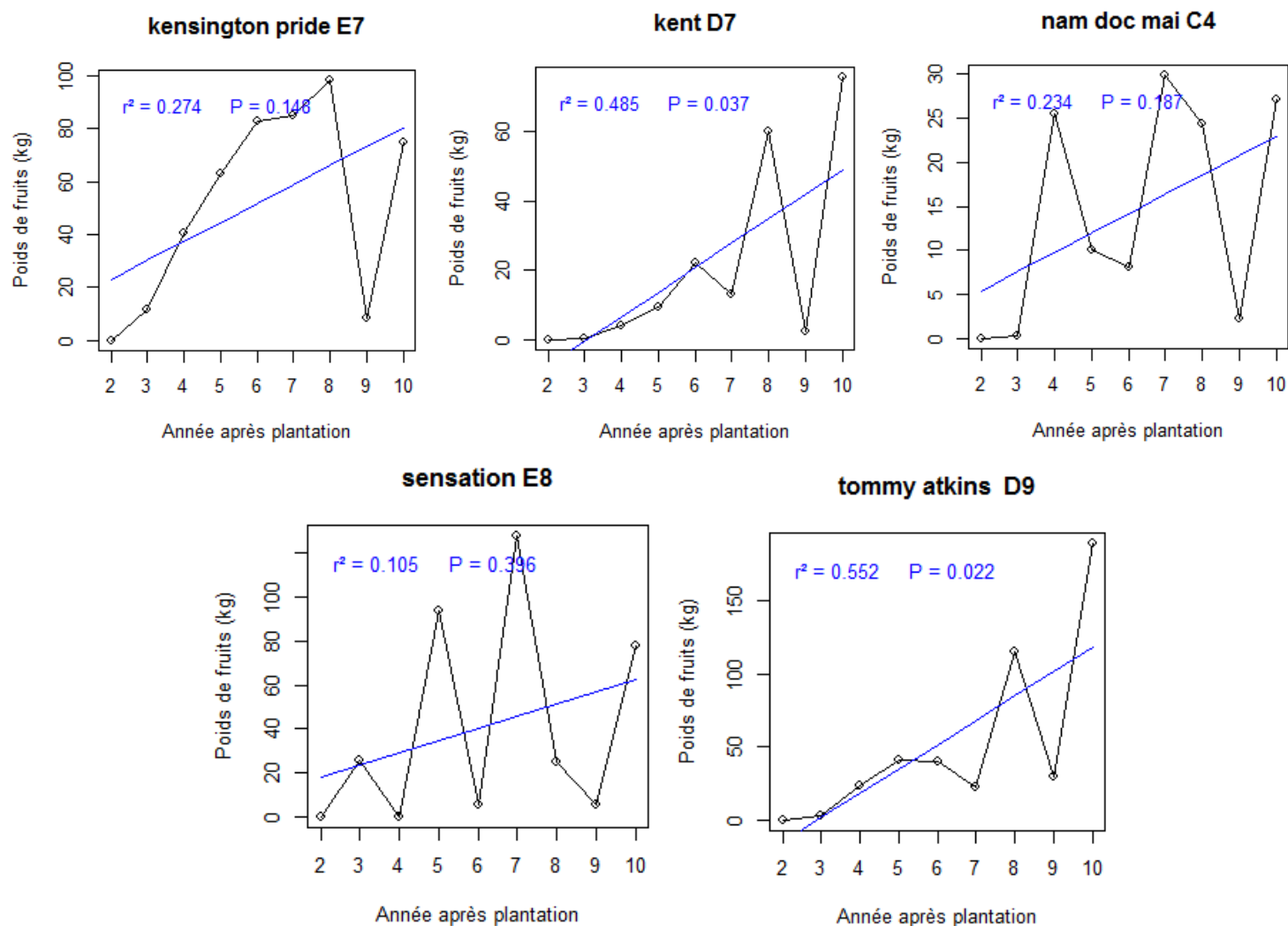


**irwin C11**



**josé B6**





**Figure 23 :** Exemple d'évolution des rendements (en kg) d'un arbre représentatif de chaque cultivar sur huit années de production, pour les huit cultivars de manguier, Cogshall (code de l'arbre : B13), Irwin (C11), José (B6), Kensington Pride (E7), Kent (D7), Nam Doc Mai (C4), Sensation (E8) et Tommy Atkins (D9). La droite bleue correspond à l'ajustement linéaire. Le coefficient de régression  $r^2$  ainsi que la probabilité associée (P) sont notés pour chaque graphique.

Différents comportements (plutôt régulier, irrégulier ou alternant) autour de la tendance sont alors observés entre les cultivars, mais également entre les arbres d'un même cultivar. Par exemple, d'après la **Figure 23**, l'arbre C11 du cultivar Irwin a un comportement plutôt régulier, du moins jusqu'à l'année 8 après plantation ; l'arbre C4 du cultivar Nam Doc Mai a un comportement très irrégulier. L'arbre B13 de Cogshall, l'arbre E8 de Sensation et l'arbre B6 de José ont un comportement plutôt alternant, et ce dès les premières productions. Certains arbres deviennent alternants après quelques années de production, par exemple Kent D7 qui devient alternant à partir de la 7<sup>ème</sup> année après plantation, ou sont alternants seulement certaines années, comme Kensington Pride E7 qui alterne fortement la 9<sup>ème</sup> année après plantation. Le jeu de données mériterait une analyse plus approfondie de l'évolution des rendements de chaque arbre et cultivar, mais cela n'était pas l'objectif du travail de cette thèse.

Les différents indices d'irrégularité de production présentés par Durand *et al.* (2013) en introduction ont ensuite été calculés sur les arbres de ces huit cultivars. L'indice BBI quantifie la variabilité interannuelle de rendement autour d'un rendement moyen (BBI, BBI\_norm) ou de la tendance (BBI\_res\_norm). BBI et BBI\_norm ont été calculés sur les données brutes de poids de fruit par arbre et BBI\_res\_norm a été calculé à l'aide des résidus des ajustements linéaires. Les indices BBI, BBI\_norm, BBI\_res\_norm sont très corrélés (coefficient de corrélation de Person  $r=0.93$ ,  $P<0.001$  entre BBI et BBI\_norm ;  $r=0.94$ ,  $P<0.001$  entre BBI et BBI\_res\_norm ; et  $r=0.99$ ,  $P<0.001$  entre BBI\_norm et BBI\_res\_norm) et nous avons décidé de n'en présenter qu'un. Nous avons choisi d'étudier le BBI\_res\_norm puisque nous travaillons sur de jeunes arbres en début de production, et leur rendement individuel présentant une évolution globalement à la hausse. Le BBI\_res\_norm permet donc de prendre en compte cette tendance d'évolution. De plus, le coefficient  $\gamma$  est calculé sur les résidus aussi (après retrait de la tendance) ce qui permet de comparer cet indice avec le BBI\_res\_norm.

Trois groupes de cultivars peuvent être définis sur la base de la comparaison des indices moyens entre cultivars (**Tableau 5**) :

- Sensation qui possède l'indice BBI\_res\_norm le plus élevé à 1.51, correspondant à une forte variation interannuelle autour de la tendance ;
- Nam Doc Mai, José, Tommy Atkins et Kent et qui possèdent des indices BBI\_res\_norm moyens et relativement proches, entre 1 et 1.10, correspondant à une variabilité interannuelle moyenne autour de la tendance ;
- Cogshall, Irwin et Kensington Pride qui possèdent des indices BBI\_res\_norm les plus faibles, avec cependant de la variabilité, les indices moyens variant entre 0.70 et 0.95, correspondant à une variabilité interannuelle plutôt faible autour de la tendance.

**Tableau 5** : Moyenne ( $\pm$  écart-type) des indices BBI\_res\_norm de chaque cultivar, ainsi que les résultats des tests de Tukey après anova.

Cultivar	Moyenne $\pm$ écart-type
Sensation	1.51 $\pm$ 0.27 a
Nam Doc Mai	1.10 $\pm$ 0.19 b
José	1.07 $\pm$ 0.15 bc
Tommy Atkins	1.06 $\pm$ 0.30 bc
Kent	1.01 $\pm$ 0.20 bc
Cogshall	0.95 $\pm$ 0.30 bcd
Irwin	0.84 $\pm$ 0.17 cd
Kensington Pride	0.70 $\pm$ 0.26 d

De plus, nous avons calculé avec les résidus des ajustements linéaires de chaque arbre le coefficient  $\gamma$  qui permet de caractériser (alternance vs irrégularité) la structure des variations interannuelles de rendement autour de la tendance (Durand *et al.*, 2013).

Trois groupes peuvent être définis sur la base de la comparaison des coefficients  $\gamma$  moyens entre cultivars (**Tableau 6**) :

- José, Kent, Irwin qui possèdent les coefficients  $\gamma$  les plus faibles, entre -0.81 et -0.70, correspondant à une structure alternante des variations interannuelles ;
- Sensation, Cogshall et Tommy Atkins qui possèdent les coefficients  $\gamma$  moyens variant entre -0.54 et -0.44, avec une forte variabilité pour Cogshall et Tommy Atkins, correspondant à une structure plutôt irrégulière des variations interannuelles ;
- Nam Doc Mai et Kensington Pride qui possèdent les coefficients  $\gamma$  les plus élevés entre -0.15 et -0.12, avec une forte variabilité pour Kensington Pride, correspond à une structure irrégulière des variations interannuelles.

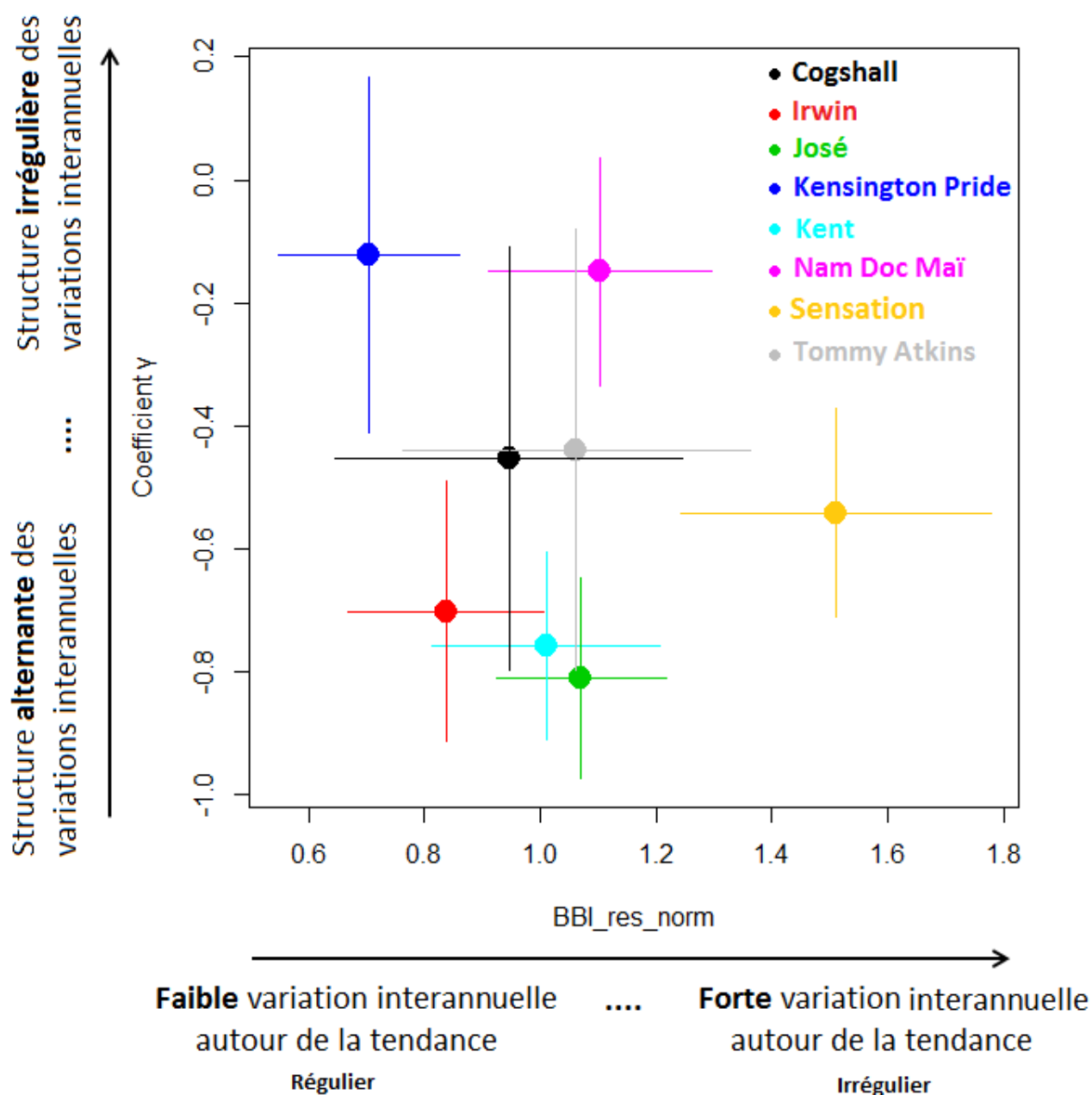
**Tableau 6** : Moyenne ( $\pm$  écart-type) du coefficient  $\gamma$  de chaque cultivar, ainsi que les résultats des tests de Tukey après anova.

Cultivar	Moyenne $\pm$ écart-type
José	-0.81 $\pm$ 0.16 a
Kent	-0.76 $\pm$ 0.15 ab
Irwin	-0.70 $\pm$ 0.21 ab
Sensation	-0.54 $\pm$ 0.17 ab
Cogshall	-0.45 $\pm$ 0.34 bc
Tommy Atkins	-0.44 $\pm$ 0.36 bcd
Nam Doc Mai	-0.15 $\pm$ 0.19 cd
Kensington Pride	-0.12 $\pm$ 0.29 d

Nous avons ensuite étudié les relations entre BBI\_res\_norm et le coefficient  $\gamma$  pour chaque cultivar (**Figure 24**). D'après Durand *et al.* (2013), les cultivars les plus réguliers sont ceux possédant un BBI\_res\_norm faible ; les cultivars irréguliers sont ceux possédant un BBI\_res\_norm élevé et un indice  $\gamma$  proche de 0 ; et les cultivars alternants sont ceux possédant un BBI\_res\_norm élevé et un indice  $\gamma$  proche de -1 (**Tableau 2**).

Dans le cadre de notre étude, les comparaisons statistiques des BBI\_res\_norm et des coefficients  $\gamma$  moyens entre les cultivars permettent de considérer qu'un BBI\_res\_norm est faible lorsqu'il est inférieur à 1 et élevé lorsqu'il est supérieur à 1.10, et qu'un coefficient  $\gamma$  est faible lorsqu'il est inférieur à -0.70 et élevé lorsqu'il est supérieur à -0.44 (**Figure 24**).





**Figure 24 :** Relation entre l'indice BBI\_res\_norm et le coefficient  $\gamma$  pour chaque cultivar. La moyenne ainsi que les écarts-type pour chaque variable sont représentés.

Nos résultats permettent de classer les cultivars suivant l'amplitude de leurs variations interannuelles de rendement autour de la tendance, avec des variations plutôt faibles (BBI\_res\_norm faible) correspondant à la régularité de production interannuelle, ou élevée (BBI\_res\_norm élevé) correspondant à l'irrégularité de production interannuelle, et suivant la structure de cette variation interannuelle, une structure alternante ( $\gamma$  proche de -1) ou irrégulière ( $\gamma$  proche de 0) (**Tableau 7**).

**Tableau 7** : Classement des différents cultivars de manguiers suivant leurs valeurs de BBI\_res\_norm et du coefficient  $\gamma$ .

		BBI_res_norm		
		Faible [0.70 ; 0.95]	Moyen [1.01 ; 1.10]	Élevé [ $< 1.50$ ]
$\gamma$	Proche de 0	Kensington Pride	Nam Doc Maï	
	Proche de -0.5		Cogshall Tommy Atkins	Sensation
	Proche de -1	Irwin	Kent José	

Nos résultats permettent donc d'améliorer l'interprétation classique et tranchée des indices d'irrégularité, à savoir qu'une variété est soit régulière, soit irrégulière, soit alternante. Sur le terrain, la production des arbres n'est jamais strictement régulière. Même si la production est assez régulière, il y a un bruit autour de la tendance d'évolution du rendement. Ce bruit peut avoir une structure irrégulière (coefficient  $\gamma$  proche de 0) ou alternante (coefficient  $\gamma$  proche de -1).

Une variabilité plus ou moins grande est observée selon les cultivars :

- lorsqu'une variabilité importante est observée, par exemple chez Cogshall, Tommy Atkins, Sensation ou chez Kensington Pride, peut penser que des différences de comportement entre arbres d'un même cultivar existent ;
- lorsque peu de variabilité est observée, il existe un comportement homogène entre les arbres en termes de régularité de production, par exemple chez José, Kent et Nam Doc Maï (**Figure 22**).

Après ces calculs de BBI\_res\_norm et de  $\gamma$  des huit cultivars de manguiers présents sur la station, nous avons décidé, pour nos prochaines expérimentations, de travailler sur quatre cultivars possédant des origines ainsi que des patterns de production différents :

- *Kensington Pride* présente des variations interannuelles de rendement faibles, donc est plutôt **régulier** mais avec une structure irrégulière des variations interannuelles ( $\gamma \rightarrow 0$ )
- *Irwin* présente des variations interannuelles de rendement faibles, donc est plutôt **régulier** mais avec une structure **alternante** des variations interannuelles ( $\gamma \rightarrow -1$ )
- *Cogshall* et *José* présentent des variations interannuelles de rendement plus marquées, donc plutôt **irréguliers**, avec José ayant un comportement plus **alternant** que Cogshall.

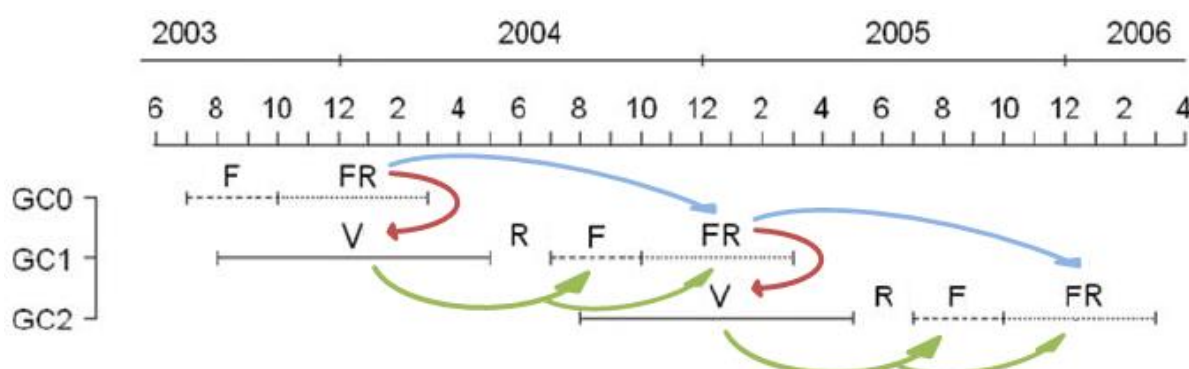
## B. Identification, caractérisation et quantification des coûts de la reproduction

L'étude des coûts de la reproduction s'est effectuée à partir de la base de données 'Doralice' en trois étapes :

- l'étude des effets de la reproduction (R) sur la croissance végétative (V) au cycle suivant ( $R \rightarrow V$ ) (**Figure 25** : flèches rouges). Cette étude a été effectuée sur deux cycles de production (GC1 et GC2), sur deux cultivars, Cogshall et Kensington Pride, et à trois échelles, l'arbre, la branche charpentière et l'unité de croissance. Les résultats ont été présentés sous forme de communication orale lors de l'International Horticultural Congress (IHC) à Brisbane, Australie, en Août 2014 par Frédéric Normand. Elle a été valorisée par un article paru dans *Acta Horticulturae*.

- l'étude des effets de la croissance végétative sur la floraison et sur la fructification ( $V \rightarrow R$ ) (**Figure 25** : flèches vertes). Cette étude a été effectuée au cours du cycle de production GC1, sur quatre cultivars, Cogshall, Irwin, José et Kensington Pride et à trois échelles, l'arbre, la branche charpentière et l'unité de croissance. J'ai présenté une communication orale sur ces résultats lors du XI International Mango Symposium à Darwin, Australie en Octobre 2015. Elle sera valorisée par un article à paraître dans *Acta Horticulturae*.

- l'étude des effets directs de la reproduction au cours d'un cycle sur la reproduction au cycle suivant ( $R1 \rightarrow R2$ ) (**Figure 25** : flèches bleues), et des effets décomposés en en prenant en compte la croissance végétative entre les deux phases reproductrices ( $R1 \rightarrow V$  et  $V \rightarrow R2$ ) (**Figure 25** : flèches rouges et vertes). Cette étude exhaustive par rapport aux deux précédentes a été effectuée sur deux cycles de production (GC1 et GC2), sur quatre cultivars, Cogshall, Irwin, José et Kensington Pride et à deux échelles, l'unité de croissance et la branche charpentière. Elle a été valorisée sous la forme d'un article scientifique publié le 21 octobre 2016 dans la revue *Frontiers in Plant Science* (<http://journal.frontiersin.org/journal/plant-science#>).



**Figure 25** : Succession temporelle de 3 cycles de production (growing cycle GC0, GC1, GC2) utilisés pour caractériser les coûts directs et indirects de la reproduction du manguiers. Chaque cycle de production est composé d'une période de croissance végétative (V), de repos végétatif (R), de floraison (F) et de fructification (FR). Adaptée de Capelli *et al.* (2016).

## a) ARTICLE 1 - The Costs of Reproduction in Plants: a Novel Approach to Study Irregular Bearing of Fruit Crops

International Horticultural Congress (IHC)  
Brisbane (Australia), 17-22 August 2014

Normand, F., Capelli, M., and Lauri, P.-É. (2016). The Costs of Reproduction in Plants: a Novel Approach to Study Irregular Bearing of Fruit Crops. *Acta Horticulturae*. 1130: 207-2013.



Ce papier correspond à l'analyse de **l'effet de l'effort reproducteur sur la croissance végétative** au cycle suivant, sur les cycles de production 2003-2004 (**Figure 25** : GC1) et 2004-2005 (**Figure 25** : GC2). L'étude a été effectuée à trois échelles spatiales, l'arbre, la charpentièrre et l'unité de croissance, et sur deux cultivars, Cogshall et Kensington Pride.

Nous avons choisi différentes variables pour caractériser l'effort reproducteur et la croissance végétative.

L'effort reproducteur a été caractérisé par le nombre de fruits.

La croissance végétative a été caractérisée par la biomasse sèche des axes et des feuilles, ainsi que la surface foliaire portée par les pousses de l'année, estimées à partir du diamètre mesuré à la base de ces pousses grâce à des relations allométriques (Normand et Lauri, 2012).

Toutes ces variables ont été normalisées par la section du tronc (analyse à l'échelle de l'arbre) ou de chaque charpentièrre (analyse à l'échelle de la charpentièrre). Pour cette étude, nous avons utilisé des arbres chargés et des arbres non-chargés, dont tous les fruits ont été retirés juste après la nouaison.

# The Costs of Reproduction in Plants: a Novel Approach to Study Irregular Bearing of Fruit Crops

F. Normand and M. Capelli  
CIRAD, UPR HortSys  
97455 Saint-Pierre Cedex  
Réunion Island  
France

P.-É. Lauri  
INRA, UMR AGAP  
34060 Montpellier  
France

**Keywords:** Flowering, fruit tree, fruiting, growth unit, mango, vegetative growth

## Abstract

**Irregular bearing is a major issue limiting productivity of temperate and tropical fruit crops. It is generally studied through the effects of fruit production in one year on flowering and fruit production in the following year, involving classical nutritional and/or hormonal hypotheses. As shown in various species, especially in the apple, there are strong reciprocal relationships between vegetative and reproductive growth, not only in a same year but also from one year to the other. These relationships are then a key point to understand irregular bearing. The effects of flowering and fruiting on the subsequent vegetative growth were investigated during two growing cycles on two irregular mango cultivars. Vegetative growth was quantified by the biomass and leaf area of new axes, assessed by allometric relationships. Negative relationships between fruit production and the subsequent vegetative growth were evidenced at the tree, scaffold branch and growth unit levels, with differences between the two cultivars. On the basis of these results, a novel approach is presented to study in a more comprehensive way the mechanisms involved in irregular bearing. It relies on the conceptual framework of the costs of reproduction in plants, originally developed in evolutionary ecology. The hypothesis is that compromises are necessary to allocate plant resources among three vital functions, namely growth, reproduction and defence, in order to maximize the reproductive success during the whole life span, and not during only one production cycle. We discuss the interest of this concept to study irregular bearing.**

## INTRODUCTION

Irregular bearing is a major issue limiting productivity of temperate and tropical fruit crops. Numerous researches have been carried out to quantify irregular bearing, to identify the factors triggering and maintaining irregular bearing, and to understand the mechanisms involved (e.g., Monselise and Goldschmidt, 1982). The main hypotheses investigated consider that fruit production affects flowering and/or fruit production the following year through nutritional and/or hormonal mechanisms. New approaches based on molecular biology have been developed recently (Muñoz-Fambuena et al., 2011; Guitton et al., 2012).

Most of these studies consider the effect of fruit production one year on flowering and fruiting the following year, and do not account for the vegetative development between these annual reproductive events. Yet, it has been shown in various fruit species strong reciprocal relationships between vegetative and reproductive growth, within and between growing cycles (Lauri and Trottier, 2004; Normand et al., 2009; Gaaliche et al., 2011; Dambreville et al., 2013). These relationships then appear as a key point to describe and understand irregular bearing in fruit trees.

The purpose of this study was to investigate the effects of flowering and fruiting on the subsequent vegetative growth of two irregular mango cultivars at different levels, the tree, the scaffold branch and the growth unit. The results suggested that an integrated approach, based on the conceptual framework of the costs of reproduction in plants, could be used to study in a more comprehensive way irregular bearing of fruit trees. This approach is presented and discussed in this paper.

## **MATERIALS AND METHODS**

The experimental orchard was located at the CIRAD (French Agricultural Research Centre for International Development) Research Station in Saint-Pierre, Réunion Island (21°31'S, 55°51'E, 280 m a.s.l.). Ten trees of two irregular mango cultivars, five trees per cultivar, were studied: Cogshall, a Floridian cultivar that is extensively grown in Réunion Island, and Kensington Pride, the main cultivar grown in Australia. They were grafted onto the polyembryonic rootstock 'Maison Rouge' and planted in May 2001. Trees were not pruned before and during the experiment.

The growing cycle of these mango cultivars lasts about 18 months in Réunion Island: vegetative growth (August year N-1 to April year N), vegetative rest (May to July), flowering (July to September), and fruit maturity (December year N to February year N+1). Consequently, consecutive growing cycles overlap on the trees, the beginning of vegetative growth of one cycle being concomitant with flowering and fruit growth of the previous cycle (see details in Dambreville *et al.*, 2013). However, the main vegetative growth period occurs after harvest, from February to April. Vegetative growth is rhythmic and asynchronous within and between trees, i.e. new growth units (GU) appear at different dates. During the vegetative growth period, branches composed of one to several GUs develop from vegetative buds located on terminal GUs, i.e. ending the previous growing cycle and situated at the periphery of the canopy. During the reproductive season, a terminal GU can remain vegetative (i.e. it does not flower: vegetative fate, V), can flower without bearing fruit (flowering fate, F), or can flower and bear fruit (fruiting fate, FR). New branches can develop on these terminal GUs with different fates.

Trees were first harvested at the beginning of the study, i.e. from December 2003 to February 2004 (growing cycle 0). The experiment lasted two growing cycles, from July 2003 to February 2005 (cycle 1) and from July 2004 to February 2006 (cycle 2). Each terminal GU of the trees was labelled and its fate was recorded in November 2003, during the reproductive season of the cycle 0, and in November 2004 during the reproductive season of the cycle 1. The basal diameter of all branches developed from these terminal GUs was recorded during vegetative rest of cycles 1 and 2, in June 2004 and 2005. The dry biomass of stem and leaves and the leaf area of the branches were estimated from their basal diameter with allometric relationships established in 2004 and in 2005. Dry biomass and leaf area were then aggregated at the scaffold branch level and at the tree level. The cross-sectional areas (csa) of the trunk and of each scaffold branch of the trees were measured during flowering of cycles 0 and 1.

Among the five trees studied per cultivar, two were completely thinned just after fruit set and did not bear fruit. On the three other trees, fruit production (number of fruits and fruit weight) was recorded at the scaffold branch level at the end of the cycles 0 and 1. Data were then aggregated at the tree level.

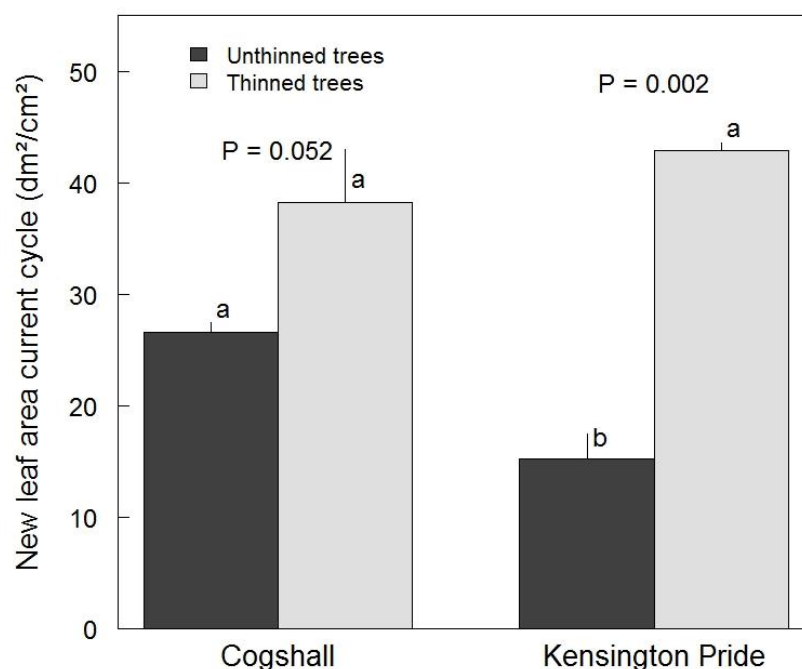
We studied the effect of fruit production during one growing cycle on vegetative growth during the following growing cycle at the tree, scaffold branch and GU levels, from cycle 0 to cycle 1, and from cycle 1 to cycle 2. Preliminary analyses showed a size-dependence, and we analysed scaled variables, i.e. vegetative growth or fruit production scaled by the csa of the respective tree or scaffold branch. Single and multiple regression models were used for statistical analyses at the tree and scaffold branch levels. As data were

not gaussian at the GU level, data distributions were compared with Kolmogorov-Smirnov test (Sprenst, 1992), and medians, rather than means, are presented in the Results section. Statistical analyses were performed with the R software (R Core Team, 2014).

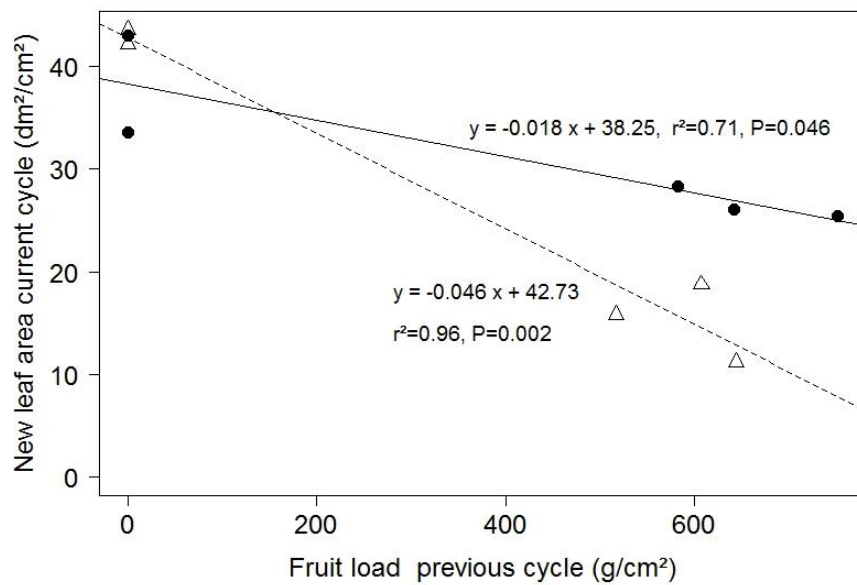
## RESULTS

Results were similar for the two growing cycles, and for both dry biomass and leaf area since these two variables were highly correlated. Consequently, we present here the effects of fruit production during growing cycle 1 on leaf area developed during the growing cycle 2.

At the tree level, the presence of fruits had a negative effect on vegetative growth during the following growing cycle, with a marked difference between cultivars (**Fig. 1**). The thinned trees produced on average 44% more leaf area than unthinned trees for Cogshall, and 180% more for Kensington Pride. The leaf area produced was negatively related to the tree fruit load during the previous growing cycle for the two cultivars (**Fig. 2**). The slope of the relationship was 2.5 times higher for Kensington Pride than for Cogshall.



**Fig. 1.** Effect of fruit production, unthinned trees (n=3) vs thinned trees (n=2), during growing cycle 1 on the tree leaf area developed during the growing cycle 2 for two mango cultivars. Bars represent standard error. For each cultivar, bars with different letters are significantly different (analysis of variance, P-values above the bars).



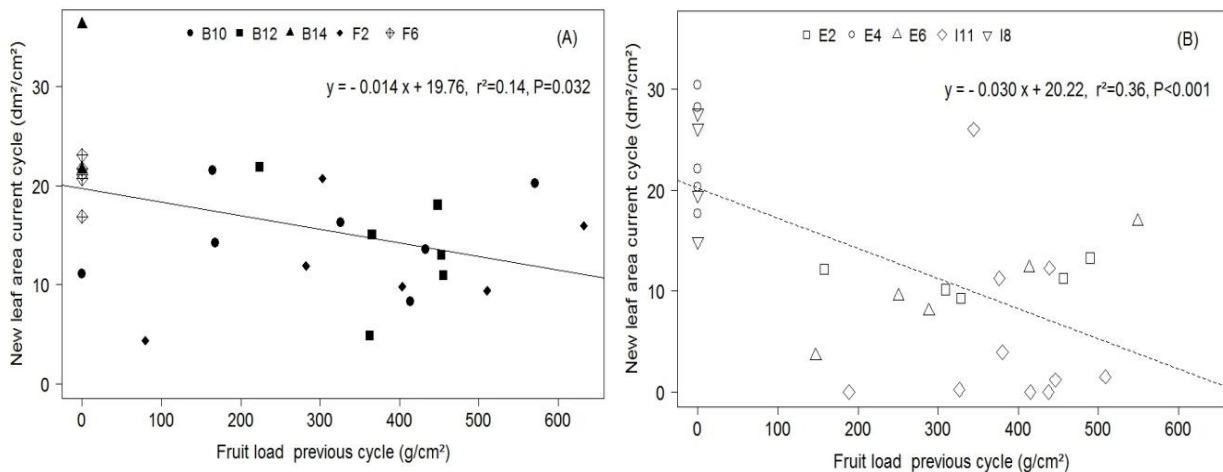
**Fig. 2.** Relationship between fruit load and tree leaf area developed during the following growing cycle for two mango cultivars, Cogshall (black circles) and Kensington Pride (open triangles). Details are given for each linear regression. Fruit load = 0 points correspond to thinned trees.

At the scaffold branch level, weak but significant negative relationships appeared between fruit load and vegetative growth during the following cycle ( $r^2=0.14$ ,  $P=0.032$ ,  $n=26$  for Cogshall;  $r^2=0.36$ ,  $P<0.001$ ,  $n=29$  for Kensington Pride; **Fig. 3**). The slope of the relationship was 2 times higher for Kensington Pride than for Cogshall. The regression models were improved when introducing the scaffold branch csa:

LA = - 0.011 FL + 0.458 Scsa + 10.30;  $r^2=0.75$ ,  $P<0.001$ ,  $n=26$  for Cogshall

LA = - 0.012 FL + 0.540 Scsa;  $r^2=0.87$ ,  $P<0.001$ ,  $n=29$  for Kensington Pride

where LA is the leaf area produced, FL is the fruit load during the previous cycle, and Scsa is the scaffold branch csa.





**Fig. 3.** Relationship between fruit load and leaf area developed during the following growing cycle at the scaffold branch level for five trees of two mango cultivars, Cogshall (A) and Kensington Pride (B). Fruit load = 0 points correspond to scaffold branches of thinned trees.

At the GU level, the leaf area of branches developed during a growing cycle was related to the fate of the terminal GUs of the previous cycle that bore them (**Table 1**). The larger the reproductive effort of the terminal GU ( $FR > F > V$ ), the smaller the leaf area of branches produced the following cycle. Kensington Pride was more affected by the reproductive effort than Cogshall. The ratio of the median leaf area of branches borne by vegetative terminal GUs to the median leaf area of branches borne by fruiting terminal GUs was 3.72 and 1.75 for Cogshall, and 18.48 and 3.54 for Kensington Pride during growing cycles 1 and 2 respectively. Whatever the fate of the terminal GU, leaf area was larger for branches produced during growing cycle 1 than during growing cycle 2.

**Table 1.** Effect of the fate of terminal growth units (V: vegetative, F: flowering, FR: fruiting) during a growing cycle on the leaf area of individual branches (dm<sup>2</sup>) produced by these growth units during the following growing cycle for two mango cultivars and two growing cycles. Median of each distribution is presented. Medians followed by different letters are significantly different (Kolmogorov-Smirnov test at the overall  $P=0.05$  level).

Cultivar	Cycles	Fate of the terminal growth unit		
		V	F	FR
Cogshall	0 → 1	8.56 <sup>a</sup>	3.52 <sup>b</sup>	2.30 <sup>b</sup>
Cogshall	1 → 2	3.03 <sup>a</sup>	1.90 <sup>b</sup>	1.73 <sup>c</sup>
Kensington Pride	0 → 1	54.14 <sup>a</sup>	6.00 <sup>b</sup>	2.93 <sup>c</sup>
Kensington Pride	1 → 2	5.42 <sup>a</sup>	2.29 <sup>b</sup>	1.53 <sup>c</sup>

## DISCUSSION

Our results showed that the fruit production during one growing cycle had a negative effect on vegetative growth during the following growing cycle at the tree, scaffold branch and growth unit levels. Kensington Pride was more susceptible than Cogshall to the negative effect of fruit load at the three studied levels (**Figs. 2, 3, Table 1**). Dambreville et al. (2013) showed structural and temporal relationships between vegetative and reproductive development of the mango tree. Their results suggested that reproduction had a negative effect on vegetative development at the tree and GU levels. Our results confirmed this point. At the scaffold branch level, the negative effect of fruit load on the subsequent vegetative growth is counter-balanced by the size of the scaffold branch. This positive effect of the scaffold branch size was less pronounced during the first growing cycle (data not shown). These results suggested that each scaffold branch had a functional autonomy with regard to vegetative growth in these two mango cultivars. The smaller branches produced during the growing cycle 2 than during the cycle 1 (**Table 1**) could probably be partly related to the ontogenetic development of these young trees.

This study evidenced the negative effect of fruit load on leaf area produced by subsequent vegetative growth. But it did not decipher how leaf area was reduced at the different levels: less leaves per GU?, smaller leaves per GU?, less GUs per branch?, less branch per terminal GU? This knowledge would probably suggest what are the physiological mechanisms involved in vegetative growth reduction. Further research is needed on this point.

These relationships implied that fruiting penalizes the vegetative development as soon as the first crop of a mango tree and will affect the future development of the tree and its cropping potential. As scaffold branches seemed to be autonomous, the first crops could lead to contrasted vegetative development and a future imbalance between them. It is likely that these reproductive-vegetative relationships at the scaffold branch level are key actors of the desynchronization phenomenon identified in apple (Lauri et al. 1995) and mango (Dambreville et al. 2013).

The consequences of vegetative growth reduction on the following flowering and fruiting could be considered at two levels. First, a decrease of the number of potential flowering/fruiting points the following year, contributing to a possible lower yield. Second, reduced vegetative growth could lead to reduced carbohydrate assimilation for the subsequent flowering and fruiting, and to reduced flowering and fruiting rates since they are positively related to the GU size (Normand et al., 2009). Further research is however needed to specify the consequences of reduced vegetative growth on the subsequent flowering and fruiting.

The negative effect of reproduction on subsequent vegetative development, as evidenced in this study for two mango cultivars, is the basis of the conceptual framework of the costs of reproduction in plants (Obeso, 2002; Reekie and Bazzaz, 2005). This concept was originally developed in evolutionary biology. The costs of reproduction are defined in terms of losses in the potential future reproductive success caused by current investments in reproduction (Jönsson, 2000). One distinguishes the direct costs of reproduction, i.e. the direct investment in flowering and fruit growth, and the indirect or delayed costs of reproduction corresponding to the effects of reproduction on the subsequent vegetative growth which in turn affects future reproduction. The direct costs can be evaluated from a nutritional point of view, and from a bud demography point of view: the more flowering buds, the less vegetative buds for the future vegetative growth. The hypothesis behind the costs of reproduction is that compromises are necessary to allocate plant resources to three main vital functions, namely growth, reproduction and defence, in order to maximize the reproductive success during the whole life span of the plant, and not during only one year. This concept has been applied in ecological studies with monoecious and dioecious species, but has rarely been applied in horticultural studies (see Stevenson and Shackel (1998) for pistachio).

The conceptual framework of the costs of reproduction could be relevant to revisit the study of irregular bearing in fruit trees. It implies that plants have developed vegetative and/or reproductive life history traits to comply with the basic hypothesis of resources allocation to maximize the reproductive success during their whole life span. It tries therefore to find relationships between vegetative and/or reproductive life history traits and fruit production over years, which is of particular interest for studies on irregular bearing. This concept offers a theoretical framework, practical methods and numerous examples on wild species to study these relationships. In a first step, the relationships are evidenced, suggesting hypotheses for the underlying mechanisms that can be investigated in a second step. Irregular bearing likely involves several physiological mechanisms. This approach appears as a comprehensive way to study irregular bearing because it does not focus on a particular point such as the classical carbohydrates or hormones. Moreover, the theory and practice attached to the costs of reproduction make reference to other interesting concepts that are not much used in

horticultural studies, such as the branch autonomy or the multilevel approach (Obeso, 2002, 2004).

A point of discussion is that fruit tree cultivars are not wild genotypes. They have been selected for particular traits related to reproduction (yield, fruit traits), vegetative development (vigor) and/or defence (pest and diseases resistance) and they are cultivated in a favorable, mostly non-limiting, environment. They are not the result of natural evolution of genotypes in their natural environment. However, selected cultivars are derived from wild genotypes and it seems reasonable to think that life history traits acquired by wild genotypes are included in the genetic background of cultivars. And the idea of compromises for resources allocation between vegetative growth, reproduction and defence is general. The negative relationships between fruit load and vegetative growth shown in this study and in other works support this point. As cultivar selection targeted improved reproductive traits (high yield, larger fruit), the allocation of resources in reproduction is probably larger in fruit tree cultivars compared to wild genotypes, and the costs of reproduction are expected to be larger, and therefore more easily identifiable and quantifiable.

## CONCLUSIONS

Vegetative growth, assessed by its dry biomass or leaf area, was negatively affected by fruit production at the tree, scaffold branch and terminal growth unit levels for two mango cultivars. Kensington Pride was more affected by the reproductive effort than Cogshall.

This result suggested that the conceptual framework of the costs of reproduction in plants offers an original approach to revisit in a more comprehensive way irregular bearing in fruit trees. This concept provides a theoretical framework, practical methods, and numerous examples developed on wild species.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Doralice Jessu, Marie Darnaudery, Clarisse Magne and Armelle Renard for their technical assistance. This research was funded by the European Community, the Regional Council of Réunion Island and CIRAD.

## Literature Cited

- Dambreville, A., Lauri, P-E., Trottier, C., Guédon, Y. and Normand, F. 2013. Deciphering structural and temporal interplays during the architectural development of mango trees. *J. Exp. Bot.* 64:2467-2480.
- Gaaliche, B., Lauri, P-E., Trad, M., Costes, E. and Mars, M. 2011. Interactions between vegetative and generative growth and between crop generations in fig tree (*Ficus carica* L.). *Sci. Hort.* 131:22-28.
- Guillon, B., Kelner, J.J., Velasco, R., Gardiner, S.E., Chagné, D. and Costes, E. 2012. Genetic control of biennial bearing in apple. *J. Exp. Bot.* 63:131-149.
- Jönsson, K.I. 2000. Life history consequences of fixed costs of reproduction. *Ecoscience* 7:423-427.
- Lauri, P.É., Térouanne, E., Lespinasse, J.M., Regnard, J.L. and Kelner, J.J. 1995. Genotypic differences in the axillary bud growth and fruiting pattern of apple fruiting branches over several years- an approach to regulation of fruit bearing. *Sci. Hort.* 64:264-281.
- Lauri, P-E. and Trottier, C. 2004. Patterns of size and fate relationships of contiguous organs in the apple (*Malus domestica*) crown. *New Phytol.* 163:533-546.
- Monselesse, S.P. and Goldschmidt, E.E. 1982. Alternate bearing in fruit trees. *Hort. Rev.* 4:128-173.

- Muñoz-Fambuena, N., Mesejo, C., Gonzalez-Mas, M.C., Primo-Millo, E., Agusti, M. and Iglesias D.J. 2011. Fruit regulates seasonal expression of flowering genes in alternate-bearing 'Moncada' mandarin. *Ann. Bot.* 108:511-519.
- Normand, F., Pambo Bello, A.K., Trottier, C., and Lauri, P-E. 2009. Is axis position within tree architecture a determinant of axis morphology, branching, flowering and fruiting? An essay in mango. *Ann. Bot.* 103:1325-1336.
- Obeso, J.R. 2002. The costs of reproduction in plants. *New Phytol.* 155:321-348.
- Obeso, J.R. 2004. A hierarchical perspective in allocation to reproduction from whole plant to fruit and seed level. *Pers. Plant Ecol. Evol. System.* 6:217-225.
- R Core Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Reekie, E.G. and Bazzaz, F.A. 2005. Reproductive allocation in plants. Elsevier Academic Press, London, United Kingdom.
- Sprent, P. 1992. *Pratique des statistiques non paramétriques*. INRA Editions, Paris, France.
- Stevenson, M.T. and Shackel, K.A. 1998. Alternate bearing in pistachio as a masting phenomenon: construction cost of reproduction versus vegetative growth and storage. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 123(6):1069-1075.

b) ARTICLE 2 - Effects of vegetative growth on flowering and fruiting at the tree, scaffold branch and growth unit scales. Implications for irregular bearing studies in mango

XI International Mango Symposium (à paraître dans *Acta Horticulturae*)  
Darwin (Australia), 28 September – 02 October 2015

Capelli, M., Lauri, P.-É., and Normand, F. (2015). Effects of Vegetative Growth on Flowering and Fruiting at the Tree, Scaffold Branch and Growth Unit Scales. Implications for irregular bearing studies in mango. In *XI International Mango Symposium, 2015-09-28/2015-10-02, Darwin, Australia. Acta Horticulturae*.



Ce papier correspond à l'analyse de l'effet de la **croissance végétative sur la floraison et sur la fructification**. L'étude a été effectuée à trois échelles spatiales, l'arbre, la charpentière et l'unité de croissance, et sur quatre cultivars, Cogshall, Kensington Pride, José et Irwin, pour le cycle de production 2003-2004 (**Figure 25** : GC1).

Les variables retenues ici pour quantifier la croissance végétative, la floraison et la fructification diffèrent de celles utilisées dans notre première étude.

La croissance végétative a été quantifiée par le nombre d'UCs terminales produites lors du cycle de production 2003/2004.

La reproduction en 2004 a été quantifiée par le taux de floraison (nombre d'UCs terminales florifères /nombre d'UCs terminales) et le taux de fructification (nombre d'UCs terminales fructifères/ le nombre d'UCs terminales florifères).

Ces variables, calculées à l'échelle de l'UC, ont ensuite été agrégées aux échelles de la charpentière et de l'arbre entier. Pour cette étude, nous n'avons pris en compte que les arbres chargés afin d'avoir les données sur le taux de fructification.

# Effects of vegetative growth on flowering and fruiting at the tree, scaffold branch and growth unit scales. Implications for irregular bearing studies in mango.

M. Capelli<sup>1</sup>, P.-É. Lauri<sup>2</sup> and F. Normand<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cirad, UPR HortSys, 97455 Saint-Pierre Cedex, Réunion Island;

<sup>2</sup> INRA, UMR AGAP, 34398 Montpellier, France

**Keywords:** fruiting pattern, genetic variability, reproductive growth, tree architecture vegetative growth.

## Abstract

The productivity of most of tropical and temperate perennial fruit crops, in particular the mango tree, is limited by irregular bearing. Studies on irregular bearing generally tackle the effects of fruit production in one year on flowering and fruiting in the following year, and do not consider vegetative growth between fruiting seasons. However, strong reciprocal relationships between vegetative and reproductive growth have been evidenced in some fruit species, suggesting they are involved in irregular bearing. Four mango cultivars with contrasted fruit bearing patterns were investigated, Cogshall, Kensington Pride, Irwin and José. We studied the relationships between vegetative growth and reproduction at the tree, scaffold branch and terminal growth unit scales. Vegetative growth was quantified at those scales by the number of terminal growth units set up during the vegetative growth season preceding flowering. Reproduction was assessed at those scales by the rates of flowering and fruiting. The relationships obtained were mostly cultivar-dependent. At the growth unit scale, we observed a positive relationship between vegetative growth and flowering for Cogshall. No relationship was observed between vegetative growth and fruiting. At the scaffold branch scale, we observed a negative relationship between vegetative growth and flowering for Kensington Pride. At the tree scale, we observed a positive relationship between vegetative growth and flowering for Cogshall, and negative relationships between vegetative growth and fruiting for Kensington Pride and José. Relationships between flowering and fruiting were absent for the different scales and cultivars. The effects of vegetative growth on mango reproduction are discussed in light of these results.

## INTRODUCTION

Most tropical and temperate perennial fruit crops have an irregular interannual fruit production. This pattern depends on the cultivar. The productivity is limited during the years of low production ('off' years), which affects farmers' incomes. Irregular bearing is usually quantified through the alternate bearing index over two consecutive years (Monselise and Goldschmidt, 1982). To understand irregular bearing, research works have been developed to identify factors triggering and maintaining it, and to understand physiological mechanisms involved in this phenomenon (Monselise and Goldschmidt, 1982; Bangerth, 2009). Many studies show that irregular bearing is linked to carbohydrate resources and to hormonal factors at the whole-tree and shoot scales (Marino and Greene, 1981; Monselise and Goldschmidt, 1982).

These studies about nutritional and hormonal mechanisms focus mainly on the effect of fruit production on flowering and/or fruiting the following year, and do not take into account

the vegetative growth that occurs between two reproductive periods. Nevertheless, it has been shown in various fruit species, including mango, strong reciprocal relationships between vegetative and reproductive growth, suggesting that vegetative growth is involved in irregular bearing (Lauri and Trottier, 2004; Normand et al., 2009; Dambreville et al., 2013).

The purpose of this study was to investigate the relationships between vegetative growth and the subsequent flowering and fruiting during a growing cycle, at the tree, scaffold branch and terminal growth unit scales, on young bearing trees of four mango cultivars (*Mangifera indica* L.) during the second year of fruit production.

## **MATERIALS AND METHODS**

The experimental orchard was located at the Cirad (French Agricultural Research Centre for International Development) research station in Saint-Pierre, Reunion Island (21°31'S, 55°51'E, 280 m a.s.l.). The experimental orchard was composed of ten mango cultivars, with 14 trees per cultivar. We studied four of these cultivars (three trees per cultivar) with different patterns of irregularity: Cogshall, a Floridian cultivar that is extensively grown in Reunion Island, and which is characterized by irregular bearing; José, a local cultivar from Reunion Island, also characterized by irregular bearing; Kensington Pride, the main cultivar grown in Australia, with a high and regular productivity in Reunion Island; and Irwin, a Floridian cultivar fairly regular bearer. Trees were grafted onto the polyembryonic rootstock 'Maison Rouge' and planted in May 2001. They were not pruned before and during the experiment.

The growing cycle of mango lasts about 18 months in Reunion Island and is composed of four main phenological stages (Dambreville *et al.*, 2013): vegetative growth (intermittently from September in year n-1 to May in year n), vegetative rest (June to July), flowering (August to September), and fruiting (December in year n to February in year n+1). During vegetative growth, vegetative buds of terminal growth units (GU) formed during the previous growing cycle produce one to several GUs. Among them, GUs in terminal position will be able to flower and fruit during the growing cycle.

We studied the effect of vegetative growth on flowering and fruiting during the September 2003 – February 2005 growing cycle at the tree, scaffold branch and GU scales. The first harvest of the trees occurred from December 2003 to February 2004. All terminal GUs of the trees were labelled in September 2003. They represent the GU scale at which vegetative growth and reproduction were studied during the growing cycle from September 2003 to February 2005.

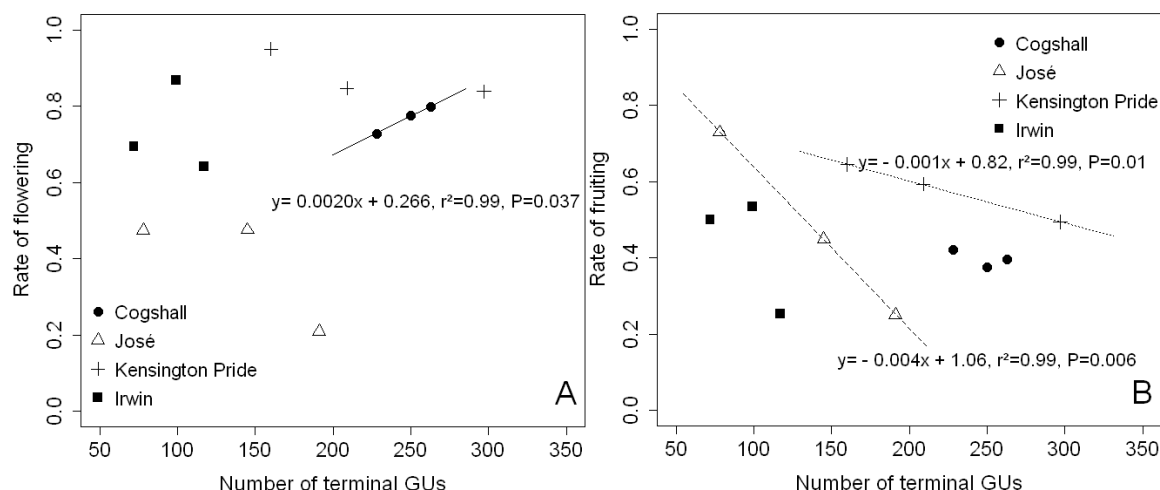
Vegetative growth was quantified at the GU scale by the number of terminal GUs set up during vegetative growth from September 2003 to May 2004. Data were then aggregated at two other spatial scales, the scaffold branch and the tree. Reproduction was assessed in November 2004 by the rate of flowering (number of flowering terminal GUs/total number of terminal GUs) and the rate of fruiting (number of fruiting terminal GUs/number of flowering terminal GUs). Flowering and fruiting data were then aggregated at the scaffold branch and tree scales and rates of flowering and fruiting were calculated at those scales.

Linear regression models were used for statistical analyses at the tree and scaffold branch scales. At the GU scale, data were split in classes on the basis of the number of terminal GUs and mean rates of flowering and fruiting were calculated for each class where the number of terminal GUs was more than or equal to 5. Correlations were assessed between the number of terminal GUs and these rates (Pearson coefficient of correlation). Statistical analyses were performed with the R software (R Core Team, 2014).

## **RESULTS**

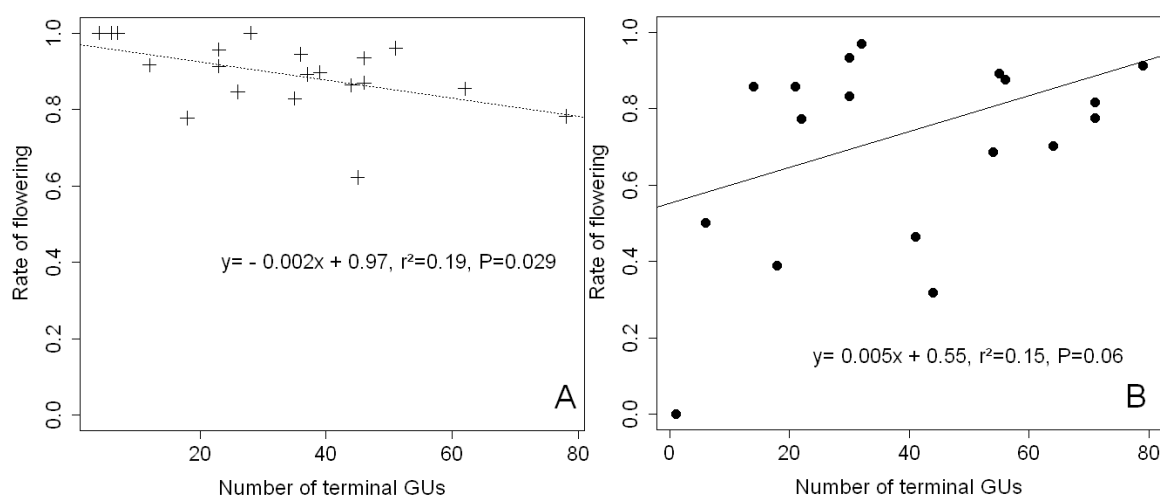
At all scales, there was a high variability between cultivars for the rates of flowering and fruiting. Rates of flowering and fruiting were always high for Kensington Pride at the tree and scaffold branch scales, whereas they were variable for the other cultivars.

At the tree scale, the relationship between the number of terminal GUs and flowering was positive and significant for Cogshall (**Fig. 1-A**). The relationship was negative but nonsignificant for the other cultivars. The relationship between the number of terminal GUs and fruiting was negative for the four cultivars, but significant for Kensington Pride and José only (**Fig. 1-B**).



**Fig. 1.** Tree scale - Relationships between the number of terminal GUs and the rate of subsequent flowering (A) and fruiting (B), for four mango cultivars, Cogshall, José, Kensington Pride and Irwin. Details are given for significant linear regressions only.

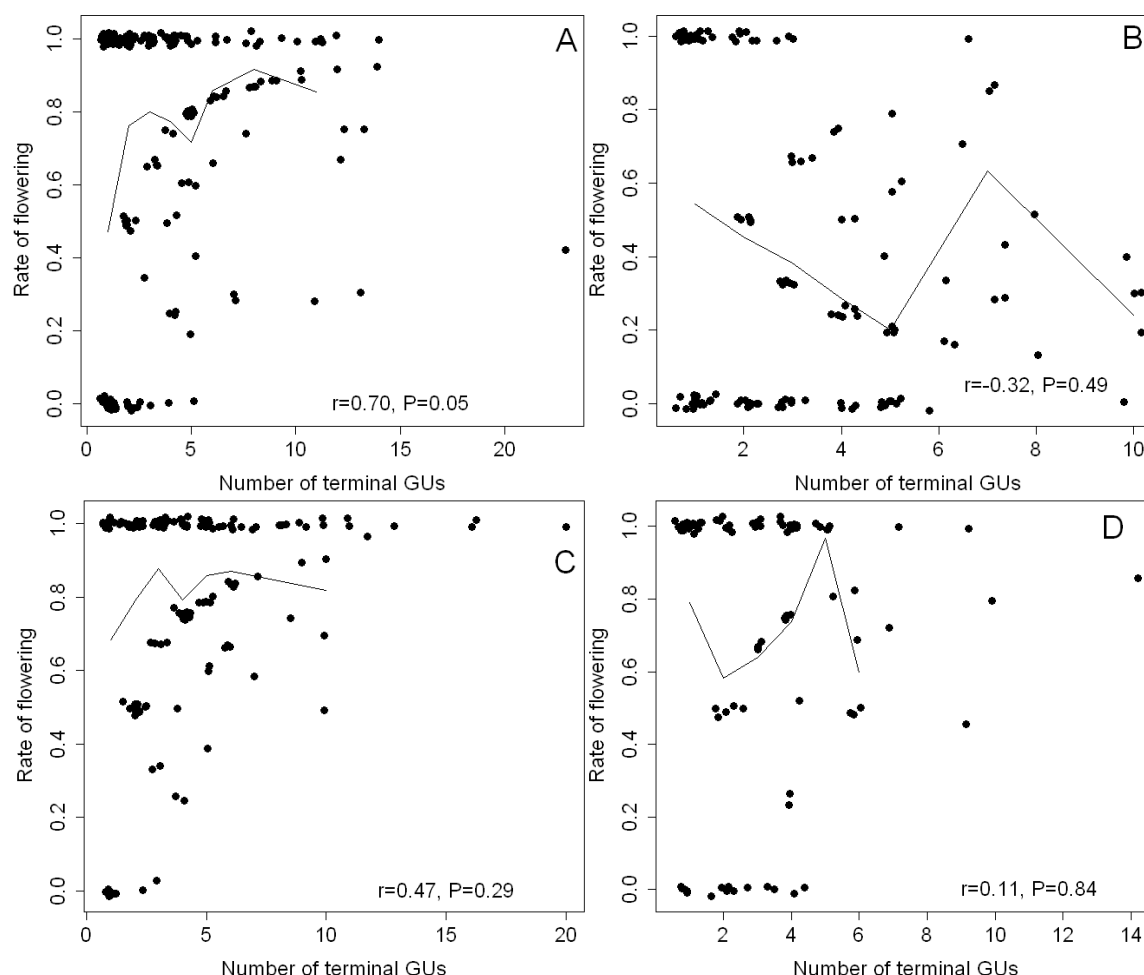
At the scaffold branch scale, the relationship between the number of terminal GUs and flowering varied strongly among cultivars. The relationship was weak and negative for Kensington Pride (**Fig. 2-A**). It was not significant for the other cultivars (e.g., Cogshall; **Fig. 2-B**). No significant relationship was observed between the number of terminal GUs and fruiting at this scale (data not shown).



**Fig. 2.** Scaffold branch scale - Relationships between the number of terminal GUs and the rate of subsequent flowering for two mango cultivars, Kensington Pride (A) and Cogshall (B). Details are given for each linear regression.



At the GU scale, and for Cogshall, Kensington Pride and Irwin, rate of flowering equal to 0 was observed only in case of low numbers of terminal GUs, and the rate of flowering was always high ( $>0.5$ ) for large numbers of terminal GUs. However, the relationship between the number of terminal GUs and flowering was positive and significant for Cogshall only (**Fig. 3-A**). For José, the trend was different: even with large numbers of terminal GUs produced, the rate of flowering could be low.



**Fig. 3.** Growth unit scale - Relationships between the number of terminal GUs and the rate of subsequent flowering for four mango cultivars, Cogshall (A), José (B), Kensington Pride (C) and Irwin (D). Correlation details are given for each graph. Random noise has been added to the data to visualize the set of points.

No relationship was observed between the number of terminal GUs and fruiting at the GU scale for all cultivars (data not shown).

There was no relationship between the rates of flowering and fruiting for the different scales and cultivars (data not shown).

## DISCUSSION

Different rates of flowering and fruiting were observed among the four cultivars studied here. For Kensington Pride, rates of flowering and fruiting were always high at the three scales. For Cogshall and Irwin, rates of flowering and fruiting were more variable among trees and scaffold branches. High rates of flowering were observed in case of important numbers of terminal GUs, and low rates of flowering in case of small numbers of terminal GUs at the GU and scaffold branch scales. For José, rates of flowering and fruiting varied a

lot, and there was no trend between the number of terminal GUs and the rates of flowering and fruiting.

There was no relationship between the rate of flowering and the rate of fruiting for the different scales and cultivars (data not shown), suggesting different physiological mechanisms underlying flowering and fruiting. Moreover, the relationships between the number of terminal GUs and the rate of flowering were different from those between the number of terminal GUs and the rate of fruiting. Normand et al. (2009) showed that GU position in tree architecture (apical vs lateral position on the parent GU) and size are clearly involved in the determinism of flowering and fruiting, but the relationships are not the same. Fruiting was linearly correlated to GU diameter, likely in relation to the amount of photosynthates produced by the leaves, whereas the rate of flowering showed a quadratic relationship with the GU diameter. This could explain the differential effects of the number of terminal GUs on flowering and on fruiting in our study.

There was no general trend in the relationship between the number of terminal GUs and the rates of flowering and fruiting, and the relationships depended on the cultivar. For Cogshall, the rate of flowering was positively affected by the number of terminal GUs at the tree and GU scales. On the contrary, for Kensington Pride the rate of flowering was negatively affected by the number of terminal GUs at the scaffold branch scale. For Kensington Pride, Irwin and José, the rate of flowering was not affected by the number of terminal GUs at the GU scale. For all cultivars, there was no relationship between the number of terminal GUs and the rate of fruiting at both the scaffold branch and the GU scales. However, at the tree scale, these relationships were negative, but significant for José and Kensington Pride only.

The contrasted results obtained in our study clearly confirms that under similar environmental conditions there was a high genetic variability of the relationships between the number of GUs develop during a growing cycle and the frequency of flowering and fruiting. It indicates that other traits, endogenous to the tree itself, should be sought. Previous results in the apple (Lauri and Trottier, 2004) and in the mango (Normand et al., 2009) have shown relationships between morphology and/or position of a single GU and its rate of flowering and/or fruiting. These results are related to morphological traits at the scale of a single GU. Our objective in this work was to study the relationships between vegetative growth at a larger scale than the single GU and the rates of flowering and fruiting. We characterized vegetative growth by the number of terminal GUs produced during a growing cycle. Our results suggested that the rates of flowering and fruiting were not clearly related with this variable. This does not imply that there is no relationship between vegetative growth and flowering and fruiting. Other variables characterizing vegetative growth produced during a growing cycle at the scale of terminal GUs, scaffold branch or the whole-tree should be considered, such as leaf area or leaves, stem or total biomass. Not only absolute biomass of stem and leaves but also their relative values should be taken into account in relation to flowering. Indeed, a negative relationship between the axialization index (the ratio of stem to leaves biomass) and flowering and fruiting has been observed (Normand et al., 2009). Future work will integrate such variables to draw a more complete picture of how vegetative growth produced during a growing cycle could affect flowering and fruiting. Further, how these relationships between vegetative growth, and flowering and fruiting, evolves across consecutive growing cycles will help understanding and likely better managing alternate bearing in mango.

We worked on young mango trees during the second production cycle. As shown in the apple, the trend of irregular bearing may be quite different between young and mature trees (Durand et al., 2013). It is thus likely that results would be different on mature trees.

## CONCLUSIONS

Floral induction and fruit set are multifactorial and can be explained by external factors (like temperature or irrigation), and also internal factors belonging to tree architecture, including the proper characteristics of the GUs (morphology) and their position within the canopy.

The rates of flowering and fruiting were not related between each other, indicating that they are probably regulated by different physiological mechanisms. Only few significant relationships were evidenced between the number of terminal GUs and the rates of flowering and fruiting, and they were cultivar-specific.

Our results suggested that the relationships between the number of terminal GUs and flowering and fruiting may not be as simple as usually stated and also varies depending on the cultivar and on the spatial scale we consider. Other traits related to stem and leaf biomass and their balance, and to the position of the branch or GU within the canopy should be considered.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Doralice Jessu, Marie Darnaudery, Clarisse Magne and Armelle Renard for their technical assistance. This research was funded by the European Community, the Regional Council of Réunion Island and Cirad.

## Literature Cited

- Bangerth, F. (2009). Floral induction in mature, perennial angiosperm fruit trees: similarities and discrepancies with annual/biennial plants and the involvement of plant hormones. *Scientia Hort.* 122, 153-163. <http://dx.doi:10.1016/j.scienta.2009.06.014>
- Dambreville, A., Lauri, P.-É., Trottier, C., Guédon, Y., and Normand, F. (2013). Deciphering structural and temporal interplays during the architectural development of mango trees. *J. Exp. Bot.* 64, 2467-2480 <http://dx.doi:10.1093/jxb/ert105>
- Durand, J.B., Guitton, B., Peyhardi, J., Holtz, Y., Guédon, Y., Trottier, C., and Costes, E. (2013). New insights for estimating the genetic value of segregating apple progenies for irregular bearing during the first years of tree production. *J. Exp. Bot.* 64, 5099-5113 <http://dx.doi:10.1093/jxb/ert297>
- Lauri, P.-É., and Trottier, C. (2004). Patterns of size and fate relationships of contiguous organs in the apple (*Malus domestica*) crown. *New Phytol.* 163, 533-546 <http://dx.doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01136.x>
- Marino, F. and Greene, D.W. (1981). Involvement of gibberellins in the biennial bearing of “Early McIntosh” apples. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 106, 593-596.
- Monselesse, S.P., and Goldschmidt, E.E. (1982). Alternate bearing in fruit trees. *Hortic. Rev.* 4, 128-173.
- Normand, F., Pambo Bello, A.K., Trottier, C., and Lauri, P.-É. (2009). Is axis position within tree architecture a determinant of axis morphology, branching, flowering and fruiting? An essay in mango. *Ann. Bot.* 103, 1325-1336 <http://dx.doi:10.1093/jxb/ert105>
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.



## c) ARTICLE 3 - Deciphering the Costs of Reproduction in Mango – Vegetative Growth Matters

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Front. Plant Sci. | doi: 10.3389/fpls.2016.01531

### Deciphering the Costs of Reproduction in Mango – Vegetative Growth Matters

Accepté en septembre 2016 à « Frontiers in Plant Science », publié en ligne :  
doi: 10.3389/fpls.2016.01531

Capelli, M., Lauri, P.-É., and Normand, F. (2016). Deciphering the Costs of Reproduction in Mango – Vegetative Growth Matters. *Frontiers in Plant Science*. 7:1531.



Cette étude vient à la suite des deux études précédentes. Elle est plus complète puisqu'elle correspond à l'analyse de **l'effet de la reproduction** durant un cycle (R1) **sur la reproduction** au cycle suivant (R2), en prenant en compte les **événements végétatifs** entre (V). Cette étude a été effectuée sur les cycles de production 2003-2004 (**Figure 25** : GC1) et 2004-2005 (**Figure 25** : GC2), et sur quatre cultivars, Cogshall, José, Irwin et Kensington Pride. Ces données ont été analysées à deux échelles spatiales, la charpentièrre et l'unité de croissance.

Le choix des variables pour quantifier la reproduction et la croissance végétative est basé à la fois sur l'analyse des résultats des deux papiers précédents, mais aussi d'après la bibliographie. La croissance végétative a été quantifiée par le nombre d'UCs total, le nombre d'UCs terminales, et la surface foliaire produits au cours d'un cycle. Les surfaces foliaires ont été estimées à partir du diamètre mesuré à la base de chaque axe produit grâce à des relations allométriques (Normand et Lauri, 2012).

Au cours du premier cycle de production (GC1), l'effort reproducteur (R1) a été qualifié par la nature de l'UC terminale (V : végétative ; F : florifère ; FR : fructifère) car les données de production n'étaient pas disponibles. L'effort reproducteur (R1) au cours du second cycle (GC2) ainsi que la reproduction au cycle suivant (R2) pour chaque des cycles (GC1 et GC2) ont été quantifiés par le nombre de fruits.

Ces variables ont été calculées à l'échelle de l'unité de croissance, puis agrégées à l'échelle de la charpentièrre. Pour les analyses à l'échelle de la charpentièrre, elles ont été normalisées par la section de chaque charpentièrre.

# Deciphering the Costs of Reproduction in Mango – Vegetative Growth Matters

Mathilde Capelli<sup>1</sup>, Pierre-Éric Lauri<sup>2</sup> and Frédéric Normand<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> CIRAD, UPR HortSys, 97455 Saint-Pierre, Reunion Island, France.

<sup>2</sup> INRA, UMR SYSTEM, 34060 Montpellier, France.

\* Corresponding author

E-mail address: mathilde.capelli@cirad.fr; lauri@supagro.inra.fr; frederic.normand@cirad.fr

## Abstract

Irregular fruit production across successive years is a major issue that limits the profitability of most temperate and tropical fruit crops. It is particularly affected by the reciprocal relationships between vegetative and reproductive growth. The concept of the costs of reproduction is defined in terms of losses in the potential future reproductive success caused by current investment in reproduction. This concept, developed in ecology and evolutionary biology, could provide a methodological framework to analyze irregular bearing in fruit crops, especially in relation to the spatial scale at which studies are done. The objective of this study was to investigate the direct effects of reproduction during a growing cycle on reproduction during the following growing cycle and the indirect effects through vegetative growth between these two reproductive events, for four mango cultivars and during two growing cycles. Two spatial scales were considered: the growth unit and the scaffold branch. Costs of reproduction were detected between two successive reproductive events and between reproduction and vegetative growth. These costs were scale-dependent, generally detected at the growth unit scale and infrequently at the scaffold branch scale, suggesting partial branch autonomy with respect to processes underlying the effects of reproduction on vegetative growth. In contrast, the relationships between vegetative growth and reproduction were positive at the growth unit scale and at the scaffold branch scale in most cases, suggesting branch autonomy for the processes, mainly local, underlying flowering and fruiting. The negative effect of reproduction on vegetative growth prevailed over the positive effect of vegetative growth on the subsequent reproduction. The costs of reproduction were also cultivar-dependent. Those revealed at the growth unit scale were related to the bearing behavior of each cultivar. Our results put forward the crucial role of vegetative growth occurring between two reproductive events. They are discussed in the context of irregular bearing considering both the spatial scale and the various bearing habits of the mango cultivars, in order to formulate new hypotheses about this issue.

**Keywords:** Allocation of reproduction, flowering, fruiting, growth unit, irregular bearing, *Mangifera indica*, tree architecture.

## Introduction

Fruit production in most tropical and temperate perennial fruit crops is irregular across successive years. Irregular bearing is characterized by years of high fruit production ('on' years) and by years of low fruit production ('off' years) (Monselise and Goldschmidt, 1982). The particular pattern of regular alternation of 'on' and 'off' years is referred to as alternate bearing. Since some fruit traits are related to yield, irregular bearing affects fruit quality across years and has economic consequences for the fruit industry. Research has been carried

out to identify factors that trigger and factors that maintain irregular bearing (Monselise and Goldschmidt, 1982; Bangerth, 2009), and to understand the physiological mechanisms involved in this phenomenon (Wilkie *et al.*, 2008; Muñoz-Fambuena *et al.*, 2011; Samach and Smith, 2013; Smith and Samach, 2013). Several studies suggest that irregular bearing is related to the balance between various types of resources (e.g., carbon/nitrogen ratio) and to hormonal factors (auxin, cytokinins, gibberellins) at the scales of the whole tree and of the shoot (Chan and Cain, 1967; Marino and Greene, 1981; Goldschmidt and Golomb, 1982; Rosecrance *et al.*, 1998). Within a given species, cultivars differ in their bearing behavior (Monselise and Goldschmidt, 1982; Knight *et al.*, 2009), and recent studies evidenced the genetic control of irregular bearing in apple (Guitton *et al.*, 2012; Durand *et al.*, 2013).

Studies on nutritional and hormonal mechanisms focus mainly on the effects of fruit production one year on flowering and/or fruiting the following year, and do not take the vegetative growth that occurs between two reproductive periods into account. Nevertheless, negative relationships have been shown between reproduction and vegetative growth in olive (Connor and Fereres, 2005; Castillo-Llanque and Rapoport, 2011), apricot (Costes *et al.*, 2000), apple (Lauri and Térouanne, 1999), avocado (Lovatt, 2010) and peach (Berman and DeJong, 2003). On the other hand, characteristics of vegetative growth can affect reproduction in various fruit species, including apple (Lauri and Trottier, 2004) and mango (Normand *et al.*, 2009). These results suggest that vegetative growth could be involved in irregular bearing. Dambreville *et al.* (2013) identified architectural factors (e.g., apical vs. lateral position of the shoot) and temporal factors (e.g., date of burst of the shoot) in the mango tree that are involved in the reciprocal interactions between vegetative growth and reproduction at the shoot scale. They showed significant interplay between structural and temporal components of architectural development with significant positive or negative relationships between successive shoots within and between growing cycles. For example, flowering or fruiting delays vegetative growth during the following cycle, and late vegetative growth decreases the probability of flowering. These relationships then appear as a key point to describe and decipher irregular bearing in fruit trees.

The concept of the costs of reproduction developed in evolutionary biology and ecology is defined in terms of losses in the potential future reproductive success caused by the current investment in reproduction (Jönsson, 2000). Two types of costs of reproduction can be distinguished: the direct costs, corresponding to the direct investment in flowering and fruit growth during the current reproductive season, and the indirect or delayed costs of reproduction, corresponding to the effects of reproduction on the subsequent vegetative growth that, in turn, can affect reproduction (Newell, 1991; Obeso, 2002). The costs of reproduction can be evaluated from a nutritional point of view, for example by determining the carbon and nitrogen costs associated with vegetative and reproductive growth (Daniels *et al.*, 2013), as well as from a demographic point of view, e.g., the higher the number of flowering buds is, the lower the number of vegetative buds for vegetative growth. The hypothesis behind the costs of reproduction is that compromises are necessary to allocate plant resources to three main vital functions, namely growth, reproduction and defense, in order to maximize the reproductive success during the entire life span of the plant and not just during one growing cycle (Obeso, 2002).

In fruit crops, the negative effects of reproduction on vegetative growth (see references above) and subsequent flowering (Chan and Cain, 1967; Marino and Greene, 1981; Lovatt, 2010) appear as delayed costs of reproduction. But only rare studies use explicitly the concept of the costs of reproduction and its associated methodologies (e.g., Stevenson and Shackel (1998) for pistachio, *Pistacia vera*). Yet, the costs of reproduction are expected to be higher in fruit crops and easier to detect because of the selection of genotypes with high yield, i.e., with higher allocation to reproduction (Obeso, 2002). Moreover, although the costs of reproduction

are often studied at the whole plant scale, they may or may not be detected at lower scales within the tree (shoot, branch), in particular, in relation to branch autonomy (Sprugel *et al.*, 1991; Obeso, 1997; Obeso, 2004).

Mango (*Mangifera indica* L.) is a monoecious evergreen species. It rates fifth in terms of worldwide fruit production (Gerbaud, 2015), and is one of the major fruit crops in tropical areas (Purseglove, 1972). Mango fruit is very important for people living in tropical countries at both the nutritional and economic levels (Mukherjee and Litz, 2009; FAO, 2011). The mango tree is an irregular bearer with a cultivar-dependent pattern of irregular bearing: some cultivars are relatively regular in terms of fruit production across years, whereas others have an irregular or alternate fruit production (Chacko, 1986; Dambreville *et al.*, 2014).

The objective of this study was to investigate the vegetative and fruiting behavior of four mango cultivars during two growing cycles in order to evidence the costs of reproduction in mango and to determine how they could explain irregular bearing. We considered a demographic, and not a nutritional, approach of the costs of reproduction in order to propose different hypotheses about the nature of the mechanisms (trophic, hormonal, ...) underlying the results. Our two hypotheses were that a higher reproductive effort during one growing cycle led to lower vegetative growth during the following cycle, and that this lower vegetative growth led to reduced reproduction. Our specific objectives were to answer the following questions: (i) What are the effects of the investment in reproduction during a growing cycle on reproduction during the following growing cycle? (ii) Are these effects mediated by the effects of reproduction on vegetative growth? (iii) At which scale within the tree (growth unit, scaffold branch) do these effects occur? and (iv) Are these effects cultivar-dependent?

## Materials and methods

### Plant material and experimental setup

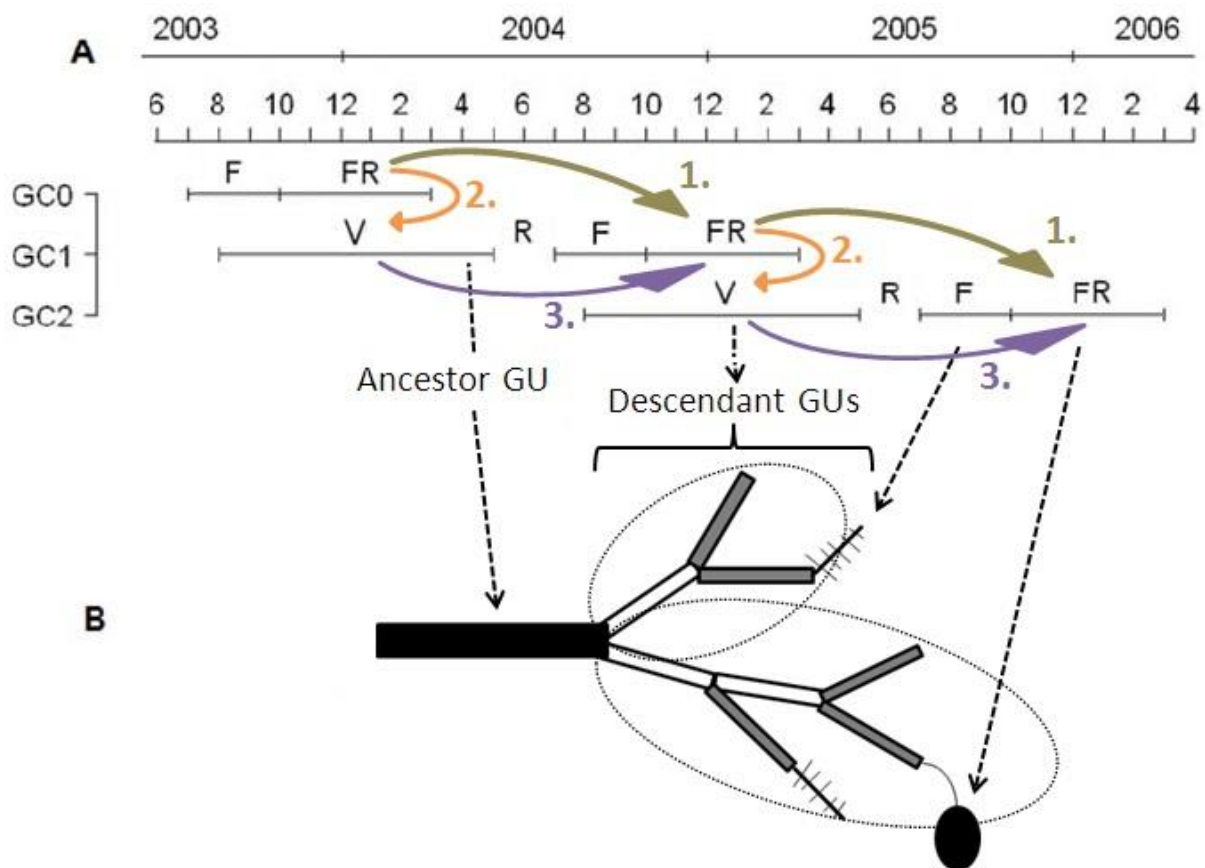
The experimental orchard was located at the CIRAD (French Agricultural Research Center for International Development) research station in Saint-Pierre, Reunion Island (21°31'S, 55°51'E, 280 m a.s.l.). It was composed of eight mango cultivars with 14 trees per cultivar, all grafted onto the polyembryonic rootstock 'Maison Rouge' and planted in May 2001. We chose to study four of these cultivars with contrasted patterns of irregular bearing in the orchard (unpublished data): José, a local cultivar from Reunion Island characterized by a strong irregular bearing; Cogshall, a Floridian cultivar that is extensively grown in Reunion Island and which is characterized by a weak irregular bearing; Kensington Pride, the main cultivar grown in Australia with a quite regular productivity in Reunion Island; and Irwin, a Floridian cultivar, the most regular bearer among the four cultivars studied. We studied three trees per cultivar. They were not pruned before or during the experiment to avoid any effect of manipulation on their vegetative development and reproduction.

The growing cycle (referred to as 'cycle' hereafter) of the mango tree lasts about 18 months in Reunion Island and is composed of four main phenological stages (Dambreville *et al.*, 2013): vegetative growth (from August in year  $n-1$  to April in year  $n$ ), rest period (May to July in year  $n$ ), flowering (August to October in year  $n$ ), and fruiting (fruit growth and maturity, from December in year  $n$  to February in year  $n+1$ ) (**Figure 1A**). Vegetative growth may begin from the second half of the flowering period to the end of fruit growth of the previous cycle and continue after the harvest during the hot and wet season. Consequently, cycles overlap in a single tree, with part of vegetative growth during the reproductive period of the previous cycle, from August to February (**Figure 1**). Vegetative growth is rhythmic and asynchronous within and between trees, and is related to the appearance of new growth units (GU), defined as the portion of the axis developed during an uninterrupted period of growth (Hallé and Martin, 1968; Barthélémy and Caraglio, 2007), at different dates, usually called "flushes". Floral induction of mango occurs just before the burst of inflorescences



(Davenport, 2009), about seven to eight months after the previous fruit harvest. Mango flowering is made up of inflorescences that appear at the tip of terminal GUs (terminal flowering). Only some inflorescences set fruits.

Kinship terms are used to describe the succession between GUs. The last GU developed during a given cycle is referred to as the ancestor GU. New GUs produced during the following cycle from a single ancestor GU are referred to as its descendant GUs. All descendant GUs from a single bud of an ancestor GU during a cycle form an axis, possibly including branching. Among the descendant GUs, those in terminal position are able to flower and set fruit during the current cycle (**Figure 1B**). Descendant GUs in terminal position during a cycle are the ancestor GUs for the following cycle. The ancestor GUs are the focal points of this study because they bear the reproduction of the cycle and are the starting points for vegetative and then reproductive development during the following cycle.



**FIGURE 1 Scheme of the partial overlapping of three consecutive growing cycles in mango.** (A) Temporal succession of the three growing cycles (GC0, GC1 and GC2) of mango trees studied for this work from June 2003 to April 2006. Each GC is composed of a succession of a vegetative growth period (V), a rest period (R), flowering (F), and fruiting (FR). (B) Succession of growth units (GUs) during two growing cycles. The ancestor GU related to GC1 is represented by a black rectangle, and the descendant GUs of GC2 by gray (terminal GUs) or white (non-terminal GUs) rectangles. Leaves are not represented. Fishbone-like symbols are inflorescences, and the black ellipse is a fruit. In this scheme, there is one ancestor GU that produced eight descendant GUs, making up two axes, circled by dotted ellipses, one with three GUs and one with five GUs. Among these descendant GUs, there are five terminal GUs. Two of them remained vegetative, the other three flowered and, among them, one set one fruit. Curved and coloured arrows represent the three complementary steps of data analyses. Adapted from Dambreville *et al.* (2013).

## Data collection

The experiment was carried out over two growing cycles, from August 2003 to February 2005 (cycle 1), and from August 2004 to February 2006 (cycle 2). Trees were first harvested at the beginning of the study, i.e., from December 2003 to February 2004 (cycle 0). The terminal GUs of each tree were identified in June 2003, before flowering of cycle 0. The scaffold branches to which they were connected were recorded. For each cycle, the fate (vegetative: V (did not flower); flowering: F (flowered but did not set fruit); fruiting: FR (flowered and set fruit)) of each terminal GU was recorded during the flowering and fruiting period. These terminal GUs were the ancestor GUs for the following cycle. The number of fruits and fruit mass were recorded per fruiting terminal GU during the three cycles 0, 1 and 2.

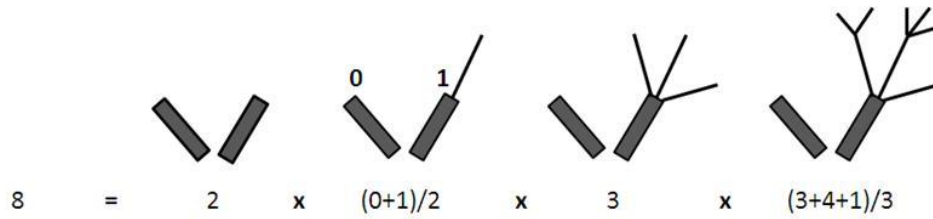
During the rest period of cycles 1 and 2, the basal diameter of all axes developed from ancestor GUs was recorded after the complete extension of the terminal descendant GUs. The number of terminal and non-terminal GUs was recorded for each axis. The leaf area of each axis was estimated from its basal diameter with allometric relationships (Normand and Lauri, 2012). The basal diameter of the trunk and of each scaffold branch of the trees was measured during flowering of cycles 0, 1 and 2, and converted into cross-sectional area assuming a circular section: BCSA (branch cross-sectional area) for scaffold branches and TCSA (trunk cross-sectional area) for trees. Leaf area, the number of terminal GUs and the number of fruits and fruit mass collected at the scale of the ancestor GU were then aggregated at the scale of the scaffold branch.

## Data analysis

Data were analyzed for each cycle. Vegetative growth produced by an ancestor GU was quantified by two main variables corresponding to two complementary points of view: the number of terminal descendant GUs, hereafter referred to as ‘terminal GUs’, produced during vegetative growth; and the leaf area of descendant GUs. The number of terminal GUs gives a demographic point of view that represents the part of the vegetative growth that is able to flower and possibly set fruit. It is therefore an architectural trait that represents the potential for subsequent reproduction. The leaf area of descendant GUs has an ecophysiological significance and gives a proxy of local carbohydrate availability linked to the capacity of the plant to capture light and, therefore, to photosynthesize. It is also allometrically related to the stem mass and volume of the descendant GUs (Normand *et al.*, 2008) and, consequently, to the capacity of local storage of carbohydrates for subsequent reproduction. At the scaffold branch scale, vegetative growth was quantified by aggregated data for these two variables, normalized by the size of the scaffold branch, i.e., divided by BCSA.

The number of descendant GUs can be broken down into basic variables that quantify chronologically-ordered basic events. For a set of ancestor GUs, the total number of descendant GUs produced during a cycle can be described by the following equation (**Figure 2**):

$$\text{Number of descendant GUs} = \text{Number of ancestor GUs} \times \text{Probability of burst of the ancestor GUs} \times \text{Number of axes per bursting ancestor GUs} \times \text{Number of descendant GUs per axis}$$



$$\text{Nb of descendant GUs} = \text{Nb of ancestor GUs} \times \text{Probability of burst} \times \text{Nb of axes/bursting ancestor GU} \times \text{Nb of descendant GUs/axis}$$

**FIGURE 2 Example of schematic representation of the four basic variables determining the total number of growth units (GUs) produced during a growing cycle.** The ancestor GUs are represented by dark gray rectangles and the descendant GUs by black lines. Leaves are not represented. Quantification of each variable is noted below the schemes.

These basic variables, i.e., the probability of burst (corresponding to the number of ancestor GUs that produced at least one descendant GU divided by the number of ancestor GUs), the number of axes per bursting ancestor GU, and the number of descendant GUs per axis, were used to analyze the setup of vegetative growth and to identify which step(s) was (were) affected by reproduction of the ancestor GU. One of our variables of interest, the number of terminal GUs, could be calculated in this way by changing the last term of the equation by the number of terminal descendant GUs per axis. Since this variable represented only one part of the total number of descendant GUs produced on an axis and since this proportion depended on the way the axis grew and branched, we preferred to consider the total number of descendant GUs for this specific analysis. We verified that the total number of descendant GUs and the number of terminal descendant GUs were positively correlated for the four cultivars (data not shown). The same equation was used for the second variable of interest, the leaf area produced per ancestor GU, after replacing the last term by the leaf area produced per axis.

Since it was difficult to precisely quantify the reproductive effort of an ancestor GU during a cycle (R1), the fate of the ancestor GU was considered as a gradient of reproductive effort, from vegetative (V, no cost of reproduction), to flowering (F, intermediate costs of reproduction) and fruiting (FR, high costs of reproduction). The concept of the costs of reproduction refers to the reproductive success in terms of seed production (Obeso, 2002). Since the mango fruit contains a single seed, reproduction during the following cycle (R2) was assessed by the number of fruits produced by the terminal GUs of an ancestor GU. At the scale of the scaffold branch, the reproductive effort during the first growing cycle (R1) and reproduction during the following cycle (R2) were quantified by the number of fruits produced by a scaffold branch, normalized by its size, i.e., divided by BCSA.

Data were analyzed for each cultivar and each cycle at the scales of the ancestor GU and of the scaffold branch. Analyses were carried out in three complementary steps (**Figure 1**):

1. The effects of reproductive effort during a cycle (R1) on reproduction during the following cycle (R2) (R1→R2: **Figure 1A, arrows 1**).
2. The effects of reproductive effort during a cycle (R1) on vegetative growth during the following cycle (V) (R1→V: **Figure 1A, arrows 2**).
3. The effects of vegetative growth (V) on reproduction during the same cycle (R2) (V→R2: **Figure 1A, arrows 3**).

The variables recorded at the scale of the ancestor GUs were not Gaussian, and generalized linear models (GLM) were used to test the effects of the fate of the ancestor GU on the vegetative and reproductive variables. A binomial distribution was used for binary response variables, and a Poisson or quasi-Poisson distribution was used for count response variables. Leaf area followed a Gaussian distribution after log-transformation, and analysis of

variance was used to analyze the effect of the fate of ancestor GUs on this variable. Linear models (LM) were used to study relationships at the scale of the scaffold branch. A Tukey post-hoc test procedure for GLM and LM was used for comparison of means with a significance level of  $P < 0.05$ . Statistical analyses were performed with R software (R Core Team, 2014), with the 'multcomp' and 'MASS' packages.

## Results

The magnitude of TCSA increase was between 2 and 3.1 over the three cycles depending on the cultivar (**Table 1**). The mean number of fruits produced per tree significantly increased between cycle 0 and cycle 1 and was similar for cycles 1 and 2 for Cogshall and Kensington Pride. It was stable across the three cycles for Irwin and José. The individual fruit mass was significantly different across cultivars, with Cogshall having heavy fruits and José light fruits. The number of fruits per fruiting ancestor GU was significantly higher for Irwin and José than for Kensington Pride and Cogshall.

### 1. Effects of reproduction during one cycle on reproduction during the following cycle (R1→R2)

At the scale of the ancestor GU, the number of fruits produced by the descendant GUs was generally higher for the V ancestor GUs than for the FR ancestor GUs, but with differences between cultivars and cycles (**Table 2**). For Cogshall, descendant GUs from V ancestor GUs produced more fruits than those from F ancestor GUs during cycle 1. During cycle 2, the number of fruits produced by the descendant GUs was not affected by the reproductive effort of the ancestor GU. For Irwin, the reproductive effort of the ancestor GU did not affect the number of fruits produced during both cycles. For José, descendant GUs from V ancestor GUs produced more fruits than those from F ancestor GUs during cycle 1 and than those from F and FR ancestor GUs during cycle 2. Descendant GUs from F and FR ancestor GUs did not produce fruit during cycle 2. For Kensington Pride, the number of fruits was higher for descendant GUs from V ancestor GUs than those from F and FR ancestor GUs during cycle 1. The reproductive effort of the ancestor GU had no effect on the number of fruits produced during cycle 2.

At the scaffold branch scale, the number of fruits produced by Cogshall during cycle 1 was negatively related to the number of fruits produced during cycle 0 ( $r^2=0.45$ ,  $P < 0.001$ ,  $n=19$ ; Supplementary Figure 1), and this relationship was positive between cycles 1 and 2 ( $r^2=0.32$ ,  $P=0.007$ ,  $n=19$ ; Supplementary Figure 1). No significant relationships were observed for the other cultivars.

**TABLE 1** Trunk cross-sectional area (TCSA), normalized number of fruits, individual fruit mass and number of fruits per fruiting ancestor growth unit (GU) (mean  $\pm$  SD) of four mango cultivars and three consecutive growing cycles. Individual fruit mass and the number of fruits per fruiting GU are averaged over the first two cycles. For the TCSA and the normalized number of fruits, means followed by different upper case letters are significantly different between cycles for the same cultivar, and means followed by lower case letters are significantly different between cultivars for the same cycle (analysis of variance followed by Tukey's test). For the individual fruit mass and the number of fruits per fruiting ancestor GU, means followed by different lower case letters are significantly different between cultivars (analysis of variance followed by Tukey's test). P-values in bold indicate significant tests ( $P < 0.05$ ).

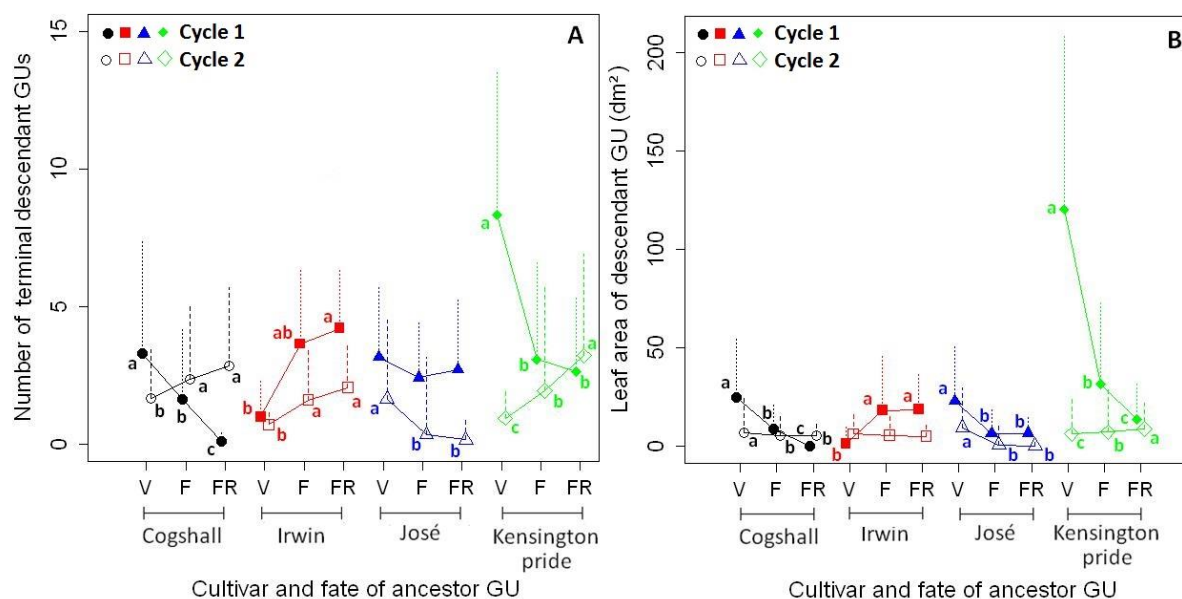
Cultivar	TCSA (cm <sup>2</sup> )				Normalized number of fruits (nb/cm <sup>2</sup> )				Individual fruit mass (g)	Number of fruits per fruiting ancestor GU
	Cycle 0	Cycle 1	Cycle 2	P-value	Cycle 0	Cycle 1	Cycle 2	P-value		
Cogshall	40.4 $\pm$ 1.8 C, b	64.5 $\pm$ 2.5 B, b	85.4 $\pm$ 6.8 A, b	<b>&lt; 0.001</b>	0.4 $\pm$ 0.2 B	1.6 $\pm$ 0.2 A	1.6 $\pm$ 0.01 A, a	<b>&lt; 0.001</b>	410.6 $\pm$ 104.1 a	1.3 $\pm$ 0.6 c
Irwin	32.0 $\pm$ 5.8 B, bc	45.8 $\pm$ 7.9 B, c	67.3 $\pm$ 10.2 A, b	<b>0.005</b>	0.9 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.05 ab	0.22	337.9 $\pm$ 93.9 c	2.2 $\pm$ 1.6 a
José Kensington	24.3 $\pm$ 4.2 C, c	44.8 $\pm$ 5.1 B, c	74.6 $\pm$ 10.4 A, b	<b>&lt; 0.001</b>	1.2 $\pm$ 0.4	1.4 $\pm$ 0.9	0.7 $\pm$ 0.5 b	0.43	210.4 $\pm$ 44.1 d	2.2 $\pm$ 1.4 a
Pride	56.1 $\pm$ 5.5 B, a	98.6 $\pm$ 4.5 B, a	142.6 $\pm$ 1.7 A, a	<b>&lt; 0.001</b>	0.7 $\pm$ 0.2 B	1.7 $\pm$ 0.1 A	1.3 $\pm$ 0.1 AB, ab	<b>0.01</b>	364.7 $\pm$ 92.0 b	1.5 $\pm$ 0.8 b
P-value	<b>&lt; 0.001</b>	<b>&lt; 0.001</b>	<b>&lt; 0.001</b>		0.07	0.84	<b>0.02</b>		<b>&lt; 0.001</b>	<b>&lt; 0.001</b>

**TABLE 2** Effect of the reproductive effort of the ancestor growth unit (GU) (vegetative (V) < flowering (F) < fruiting (FR)) on the number of fruits (mean  $\pm$  SD) produced by the descendant GUs of each ancestor GU during the following cycle, for four mango cultivars and two growing cycles. For each cycle and cultivar, means followed by different letters are significantly different (generalized linear model followed by Tukey's test with  $P < 0.05$ ). P-values in bold indicate significant tests ( $P < 0.05$ ). Means are not computed when sample size is less than 5 ('-').

Cycle	Cultivar	Fate of ancestor GU			P-value
		V	F	FR	
1	Cogshall	2.2 $\pm$ 2.3 a	0.9 $\pm$ 1.1 b	-	<b>&lt; 0.001</b>
	Irwin	-	1.6 $\pm$ 3.2	3.2 $\pm$ 3.3	0.07
	José	2.5 $\pm$ 4.1 a	0.9 $\pm$ 1.5 b	1.3 $\pm$ 2.0 ab	<b>0.01</b>
	Kensington Pride	8.8 $\pm$ 6.0 a	2.8 $\pm$ 2.5 b	1.8 $\pm$ 1.4 c	<b>&lt; 0.001</b>
2	Cogshall	0.9 $\pm$ 1.7	0.8 $\pm$ 1.1	0.7 $\pm$ 1.0	0.42
	Irwin	1.0 $\pm$ 1.5	0.9 $\pm$ 1.1	1.3 $\pm$ 1.8	0.22
	José	1.2 $\pm$ 2.0 a	0.0 $\pm$ 0.0 b	0.0 $\pm$ 0.0 b	<b>0.001</b>
	Kensington Pride	1.5 $\pm$ 2.2	1.1 $\pm$ 1.7	1.2 $\pm$ 1.4	0.41

## 2. Effects of reproduction during one cycle on vegetative growth during the following cycle (R1→V)

The reproductive effort of the ancestor GU affected vegetative growth during the following cycle, i.e., the number of terminal GUs and the leaf area of descendant GUs, for the four cultivars and the two cycles (**Figure 3**). For Cogshall and Kensington Pride, F and FR ancestor GUs produced significantly less terminal GUs than V ancestor GUs during cycle 1, whereas they produced significantly more terminal GUs than V ancestor GUs during cycle 2 (**Figure 3A**). For Irwin, the reproductive effort of the ancestor GU affected the number of terminal GUs in the same way during both cycles: F and FR ancestor GUs produced more terminal GUs than V ancestor GUs. The opposite trend was observed for José: V ancestor GUs produced more terminal GUs than F and FR ancestor GUs. The differences were significant during cycle 2 but not during cycle 1.



**FIGURE 3 R1→V relationships at the ancestor growth unit (GU) scale.** Effects of the reproductive effort of the ancestor GU (vegetative (V) < flowering (F) < fruiting (FR)) on the number of terminal descendant GUs (A) and on the leaf area of descendant GUs (B) produced during the following cycle (mean + SD) for four mango cultivars, Cogshall, Irwin, José, and Kensington Pride, and two growing cycles. For a given cultivar and cycle, means with different letters are significantly different (generalized linear model (A) and analysis of variance on log-transformed data (B), followed by Tukey's test).

The range of leaf area produced per ancestor GU was low for Irwin (0.35-69.9 dm<sup>2</sup>) intermediate for Cogshall (0.0-125.8 dm<sup>2</sup>) and José (0.0-131.1 dm<sup>2</sup>), and large for Kensington Pride (0.0-291.9 dm<sup>2</sup>) during cycle 1. For Cogshall and José, V ancestor GUs produced a larger leaf area during the following cycle than F and FR ancestor GUs during both cycles (**Figure 3B**). For Irwin, F and FR ancestor GUs produced a larger leaf area than V ancestor GUs during cycle 1, and no significant relationship was revealed during cycle 2. For Kensington Pride, V ancestor GUs produced four times more leaf area than F ancestor GUs, and nine times more than FR ancestor GUs during cycle 1. The opposite was observed during cycle 2, but with less absolute difference than during cycle 1.

The reproductive effort of the ancestor GU affected basic variables that characterize the processes involved in vegetative growth setup, i.e., the probability of burst of the ancestor GU, the number of axes produced per bursting ancestor GU, the number of descendant GUs per axis, and the leaf area of descendant GUs per axis, with an effect of cultivar and cycle (**Table 3**).

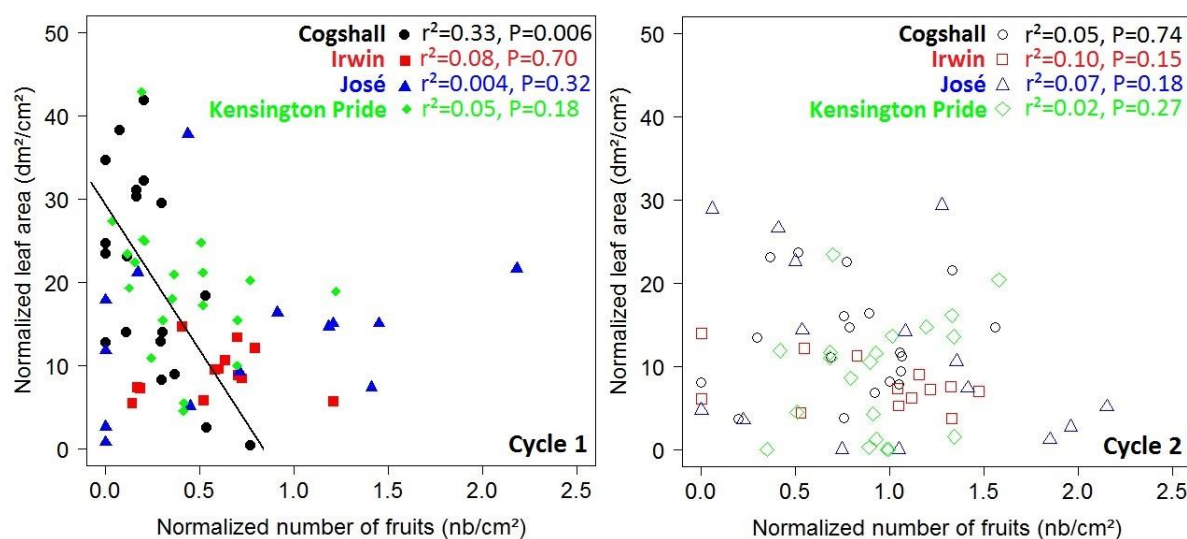
For Irwin, the probability of burst was higher for F and FR than for V ancestor GUs during both cycles. In contrast, it was higher for V ancestor GUs during both cycles for José. For Cogshall and Kensington Pride, the effect of reproductive effort on the probability of burst differed between the two cycles. During cycle 1, it was high for the V and F ancestor GUs and low for the FR ancestor GUs, whereas it was higher for F and FR ancestor GUs during cycle 2. The number of axes produced per bursting ancestor GU was generally high for the FR ancestor GUs, low for the V ancestor GUs, and intermediate for the F ancestor GUs, except for Irwin and Cogshall during cycle 1 and José during cycle 2 where the relationships were not significant. The number of descendant GUs per axis was generally higher for V ancestor GUs than for F and FR ancestor GUs, except for Irwin where the number of descendant GUs per axis was higher for F ancestor GUs during cycle 1, and for V and F ancestor GUs during cycle 2. Similarly, the leaf area per axis was generally high for V ancestor GUs, low for FR ancestor GUs, and intermediate for F ancestor GUs, but with non-significant differences between F and FR ancestor GUs for José during cycle 2 and Irwin during cycle 1.

**TABLE 3** Effect of the reproductive effort of the ancestor growth unit (GU) (vegetative (V) < flowering (F) < fruiting (FR)) on its vegetative growth during the following cycle, characterized by four variables (mean  $\pm$  SD): probability of burst, number of axes per bursting ancestor GU, number of descendant GUs per axis, and leaf area of descendant GUs per axis for four mango cultivars and two growing cycles. In the same line, means followed by different letters are significantly different (generalized linear model, and analysis of variance on log-transformed data for the leaf area per axis, followed by Tukey's test). P-values in bold indicate significant tests ( $P < 0.05$ ). Means are not computed when sample size is less than 5 ('-').

Cycle	Cultivar	Variable	Fate of ancestor GU						P-value
			V		F		FR		
1	Cogshall	Ancestor prob. of burst	0.7 ± 0.5	a	0.6 ± 0.5	a	0.1 ± 0.3	b	< <b>0.001</b>
		Number of axes/ancestor	2.5 ± 1.5		2.5 ± 1.3		-		0.4
		Number of GU/axis	3.3 ± 2.9	a	1.8 ± 1.3	b	-		< <b>0.001</b>
		Leaf area/axis (dm²)	14.6 ± 14.3	a	6.2 ± 6.2	b	2.2 ± 0.3	b	< <b>0.001</b>
	Irwin	Ancestor prob. of burst	0.4 ± 0.6	b	1.0 ± 0.0	a	1.0 ± 0.0	a	< <b>0.001</b>
		Number of axes/ancestor	-		3.5 ± 2.8		4.2 ± 2.2		0.22
		Number of GU/axis	1.9 ± 0.9	b	2.3 ± 1.2	a	1.7 ± 0.6	b	< <b>0.001</b>
		Leaf area/axis (dm²)	6.1 ± 4.6	a	5.3 ± 4.6	ab	4.5 ± 4.1	b	< <b>0.001</b>
	José	Ancestor prob. of burst	0.9 ± 0.9	a	0.7 ± 0.5	b	0.8 ± 0.4	ab	<b>0.009</b>
		Number of axes/ancestor	1.9 ± 1.3	b	3.4 ± 2.0	a	3.5 ± 2.7	a	< <b>0.001</b>
		Number of GU/axis	3.0 ± 2.5	a	1.1 ± 0.4	b	1.1 ± 0.6	b	< <b>0.001</b>
		Leaf area/axis (dm²)	12.3 ± 12.2	a	2.7 ± 2.0	b	1.1 ± 3.2	c	< <b>0.001</b>
	Kensington Pride	Ancestor prob. of burst	1.0 ± 0.0	a	0.9 ± 0.3	a	0.7 ± 0.5	b	< <b>0.001</b>
		Number of axes/ancestor	2.2 ± 1.6	b	3.0 ± 1.7	ab	3.5 ± 2.1	a	<b>0.03</b>
		Number of GU/axis	6.3 ± 4.2	a	1.9 ± 1.3	b	1.4 ± 1.4	c	< <b>0.001</b>
		Leaf area/axis (dm²)	54.2 ± 23.1	a	12.0 ± 12.3	b	6.2 ± 9.8	c	< <b>0.001</b>
2	Cogshall	Ancestor prob. of burst	0.5 ± 0.5	b	0.6 ± 0.5	a	0.7 ± 0.5	a	< <b>0.001</b>
		Number of axes/ancestor	2.1 ± 1.4	c	3.5 ± 1.8	b	4.3 ± 2.5	a	< <b>0.001</b>
		Number of GU/axis	2.5 ± 2.6	a	1.3 ± 1.1	b	1.0 ± 0.3	c	< <b>0.001</b>
		Leaf area/axis (dm²)	7.5 ± 10.7	a	2.3 ± 3.0	b	2.1 ± 1.5	c	< <b>0.001</b>
	Irwin	Ancestor prob. of burst	0.6 ± 0.5	b	0.7 ± 0.4	a	0.8 ± 0.4	a	< <b>0.001</b>
		Number of axes/ancestor	1.2 ± 0.6	b	2.2 ± 1.0	a	2.7 ± 1.4	a	< <b>0.001</b>
		Number of GU/axis	2.0 ± 0.9	a	1.8 ± 0.9	a	1.1 ± 0.4	b	< <b>0.001</b>
		Leaf area/axis (dm²)	10.4 ± 10.8	a	3.6 ± 3.0	b	2.5 ± 2.1	c	< <b>0.001</b>
	José	Ancestor prob. of burst	0.5 ± 0.5	a	0.2 ± 0.4	b	0.1 ± 0.3	b	< <b>0.001</b>
		Number of axes/ancestor	2.4 ± 1.9		2.0 ± 1.4		1.6 ± 1.1		0.29
		Number of GU/axis	2.1 ± 1.4	a	1.2 ± 1.0	b	1.3 ± 0.3	ab	< <b>0.001</b>
		Leaf area/axis (dm²)	8.5 ± 6.6	a	4.4 ± 3.1	b	3.8 ± 2.4	b	< <b>0.001</b>
	Kensington Pride	Ancestor prob. of burst	0.2 ± 0.4	b	0.5 ± 0.5	a	0.5 ± 0.4	a	< <b>0.001</b>
		Number of axes/ancestor	2.3 ± 1.5	c	3.9 ± 2.2	b	5.9 ± 3.2	a	< <b>0.001</b>
		Number of GU/axis	2.8 ± 2.6	a	1.2 ± 0.9	b	1.1 ± 0.6	c	< <b>0.001</b>
		Leaf area/axis (dm²)	13.8 ± 15.6	a	4.2 ± 4.7	b	2.9 ± 3.3	c	< <b>0.001</b>



At the scaffold branch scale, a negative relationship was revealed for Cogshall between the number of fruits produced during cycle 0 and the leaf area of descendant GUs produced during cycle 1 (**Figure 4**). No significant relationship was observed between these variables for the other cultivars and for any of the cultivars between cycles 1 and 2 (**Figure 4**). The number of terminal GUs produced during cycle 1 was negatively related to the number of fruits produced during cycle 0 for Cogshall ( $r^2=0.41$ ,  $P=0.002$ ,  $n=19$ ). This relationship was positive for José ( $r^2=0.39$ ,  $P=0.007$ ,  $n=16$ ). Positive relationships were shown between cycles 1 and 2 for Cogshall ( $r^2=0.25$ ,  $P=0.02$ ,  $n=19$ ) and for Irwin ( $r^2=0.39$ ,  $P=0.01$ ,  $n=13$ ) (Supplementary Figure 2). No significant relationship was revealed between these variables for Kensington Pride during either cycle.

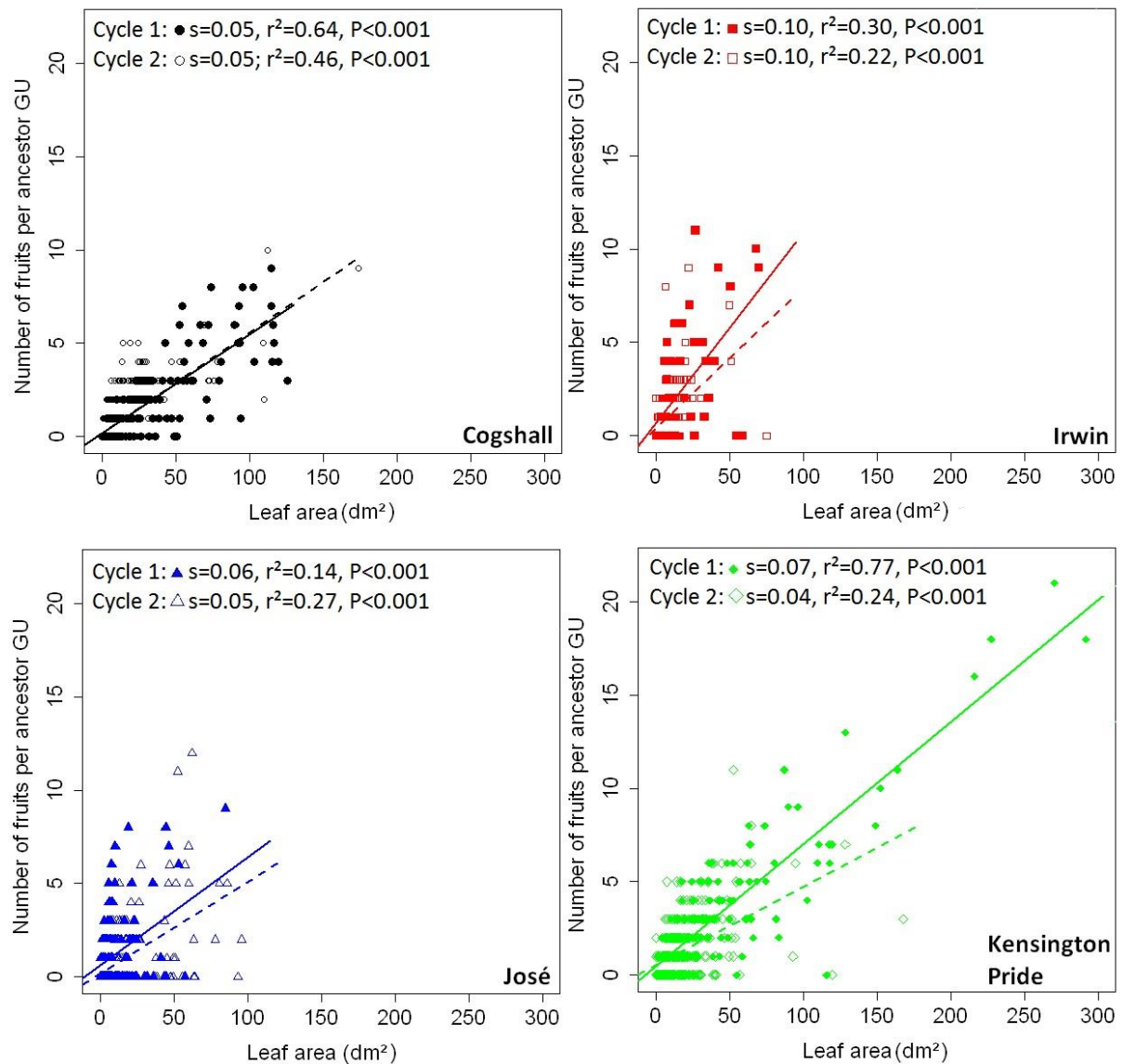


**FIGURE 4 R1→V relationships at the scaffold branch scale.** Relationships between the normalized number of fruits produced during the previous cycle and the normalized leaf area produced by descendant growth units (GUs) during the current cycle at the scaffold branch scale for four mango cultivars, Cogshall, Irwin, José, and Kensington Pride, and two growing cycles. Coefficient of determination ( $r^2$ ) and P-value associated with the linear adjustments are given in the figure. Regression lines are presented for significant relationships ( $P < 0.05$ ).

### 3. Effects of vegetative growth on reproduction during the same cycle (V→R2)

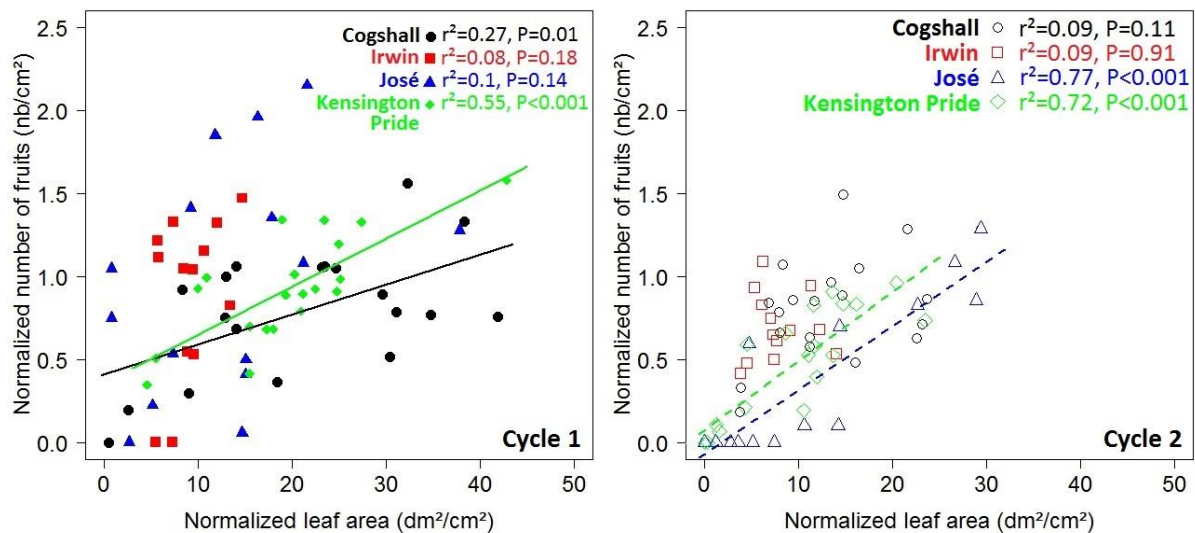
At the scale of the ancestor GU, positive relationships were shown between the leaf area of descendant GUs and the number of fruits produced by these descendant GUs for all cultivars and during both cycles (**Figure 5**). These relationships were satisfactorily approximated by linear regressions. For each cycle, slopes of the relationships were significantly different between cultivars (analysis of covariance,  $P < 0.001$ ). Slopes were significantly higher for Irwin and Kensington Pride than for Cogshall during cycle 1, and were higher for Irwin than for Kensington Pride during cycle 2.

Positive relationships were also revealed between the number of terminal GUs and the number of fruits they produced for all cultivars and during both cycles (Supplementary Figure 3). Slopes of the relationships were significantly different between cultivars for both cycles (analysis of covariance,  $P < 0.001$ ). Slopes were higher for Kensington Pride and Irwin than for Cogshall and José during cycle 1, and were higher for Irwin than Cogshall, Kensington Pride and José during cycle 2.



**FIGURE 5 V→R2 relationships at the ancestor growth unit (GU) scale.** Relationships between leaf area of descendant GUs produced by each ancestor GU and the number of fruits produced by these descendant GUs for four mango cultivars, Cogshall, Irwin, José, and Kensington Pride, and two growing cycles. Slope (s), coefficient of determination ( $r^2$ ) and P-value associated with the linear adjustments (cycle 1: solid line; cycle 2: dotted line) are given for each cycle.

At the scaffold branch scale, positive relationships were observed between the leaf area of descendant GUs and the number of fruits produced by these descendant GUs for Cogshall and Kensington Pride during cycle 1, and for José and Kensington Pride during cycle 2 (**Figure 6**). No significant relationship was observed for Irwin. Positive relationships were revealed between the number of terminal GUs and the number of fruits they produced during cycle 1 for Cogshall ( $r^2=0.49$ ,  $P<0.001$ ,  $n=19$ ) and Kensington Pride ( $r^2=0.26$ ,  $P=0.01$ ,  $n=20$ ), and during cycle 2 for Cogshall ( $r^2=0.24$ ,  $P=0.02$ ,  $n=19$ ) and Irwin ( $r^2=0.46$ ,  $P=0.007$ ,  $n=13$ ; Supplementary Figure 4). No relationship was observed for José.



**FIGURE 6 V→R2 relationships at the scaffold branch scale.** Relationships between the leaf area produced during a cycle and the number of fruits produced during this cycle at the scaffold branch scale for four mango cultivars, Cogshall, Irwin, José, and Kensington Pride, and two growing cycles. Coefficient of determination ( $r^2$ ) and P-value associated with the linear adjustments are given in the figure. Regression lines are presented for significant relationships ( $P < 0.05$ ).

## Discussion

Constraining relationships link life history traits, i.e., survival, growth and reproduction, and lead to compromises, or costs, for plants (Reznick, 1985). Some researchers have addressed the costs of reproduction by considering reproduction (R) and vegetative growth (V), and by alternatively analyzing the effects of reproduction during one cycle on reproduction during the following cycle ( $R \rightarrow R$ ) (Jonkers, 1979; Monselise and Goldschmidt, 1982; Kawamura and Takeda, 2006; Muñoz-Fambuena *et al.*, 2011), and/or the effects of reproduction on vegetative growth ( $R \rightarrow V$ ) (Miyazaki *et al.*, 2002; Kawamura and Takeda, 2006; Żywiec and Zielonka, 2013). Some of these studies use plant manipulation such as stem girdling (Newell, 1991) or the experimental reduction or increase of fruit production (Ashman, 1992; Euler *et al.*, 2012; Toivonen and Mutikainen, 2012; Sletvold and Ågren, 2015). In our study, we characterized, without any plant manipulation, the effects of reproduction during one cycle on reproduction during the following cycle ( $R1 \rightarrow R2$ ), and further broke down this global effect considering two structural and temporal steps, namely the effects of reproduction on vegetative growth during the following cycle ( $R1 \rightarrow V$ ), and the effects of vegetative growth on the subsequent reproduction ( $V \rightarrow R2$ ).

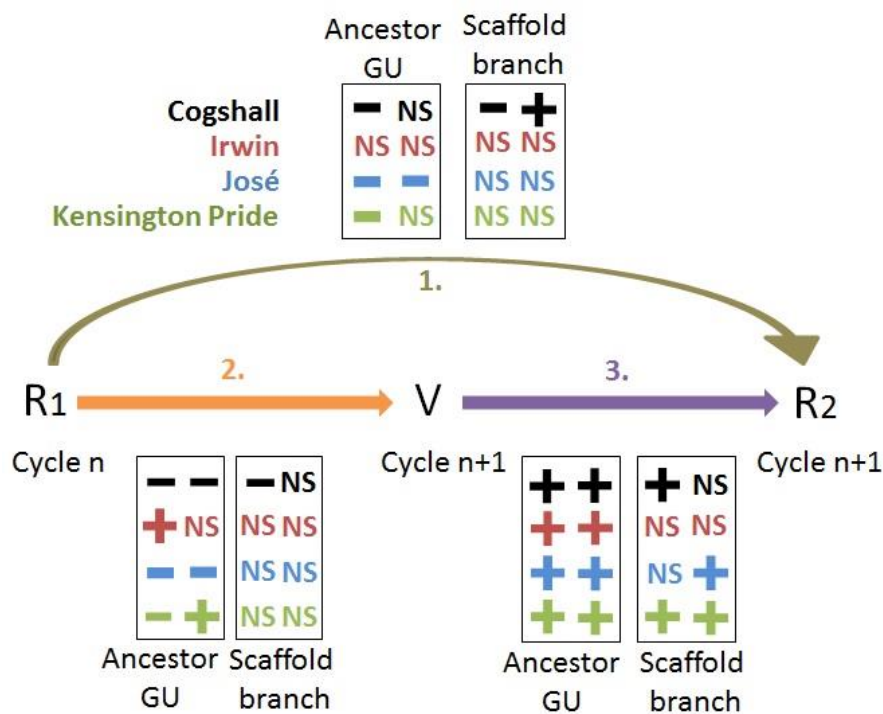
Our study did not take the effect of the growing cycle into account for two reasons. First, environmental factors were different between the two cycles (especially rainfall during vegetative growth after harvest; data not shown), and plant development and reproduction are affected by external factors such as temperature, rainfall and light radiation. Second, the trees were young and underwent ontogenic changes (Thomas and Winner, 2002; Barthélémy and Caraglio 2007), e.g., a decrease in vegetative growth associated to an increase of fruit production (Dambreville *et al.*, 2013) that might have affected the observed relationships between the two cycles.

## 1. Deciphering the delayed costs of reproduction

Delayed costs of reproduction, i.e., from one cycle to the following, differed between cultivars and between scales. In the following, our results are discussed by scale, first at the ancestor GU scale and then at the scaffold branch scale.

### 1.1. Scale of the ancestor GU

The effect of the reproductive effort on vegetative growth differed between cultivars (**Figure 7**). Cogshall and José showed a negative effect during both cycles, Irwin showed a positive effect during the first cycle and no effect during the second cycle, and Kensington Pride showed opposite effects, negative during the first cycle and positive during the second cycle. The negative  $R1 \rightarrow V$  relationships indicated delayed costs of reproduction on vegetative growth at the ancestor GU scale. These costs were high for Cogshall and José, null for Irwin and intermediate for Kensington Pride. Previous studies have also shown negative  $R \rightarrow V$  relationships at the shoot scale, e.g., the inhibition of shoot emergence by fruit growth (Plummer, 1987; Davenport, 1990; Lovatt, 2010; Smith and Samach, 2013), or the reduction of leaf length on reproductive shoots (Tuomi *et al.*, 1982). The reproductive fate of *Vaccinium hirtum* branches negatively affects their number of shoots (Kawamura and Takeda, 2006). In contrast, pistachio shoot growth is not affected by fruit production (Stevenson *et al.*, 2000). In our study, the decomposition of vegetative growth into four basic variables that quantify chronologically-ordered basic events allowed a better understanding of the effects of reproduction on vegetative growth.



**FIGURE 7 Synthesis of the  $R1 \rightarrow V \rightarrow R2$  relationships.** Relationships between reproduction ( $R1$ ,  $R2$ ) and vegetative growth ( $V$ ), expressed as the leaf area of descendant growth units (GUs), for four mango cultivars at the scales of the ancestor GU and of the scaffold branch. The '+' and '-' symbols represent significant positive and negative relationships, respectively ( $P < 0.05$ ), and NS indicates non-significant relationships. The first and second columns in each box represent the results from cycle 0 to cycle 1, and from cycle 1 to cycle 2, respectively, for  $R1 \rightarrow R2$  and  $R1 \rightarrow V$ , and within cycle 1 and cycle 2, respectively, for the  $V \rightarrow R2$  relationships.

The similarity between the probability of burst of the ancestor GU, on the one hand (**Table 3**), and the effects of the reproductive effort of the ancestor GU on the leaf area of the descendants GUs, on the other (**Figure 3.B**), suggests that the probability of burst was an important factor in determining vegetative growth. The effect of the reproductive effort on the probability of burst was negative for José and positive for Irwin. Kensington Pride and Cogshall showed opposite effects, negative during the first cycle and positive during the second cycle. The observed negative effect could be related to two non-exclusive mechanisms that have been proposed to better understand the mechanism of fruit dominance on vegetative growth (Smith and Samach, 2013). The first one is a trophic mechanism, a competition for resources between reproduction and vegetative outgrowth. Inflorescence growth, which represents small sinks over a relatively short time, about 3-4 weeks, and fruit growth, which represents strong sinks over a long time, about four months, would lead to local carbohydrate depletion in the reproductive ancestor GUs, hindering vegetative outgrowth. This depletion persists after removal of the sinks since a delay is needed to recover a satisfactorily local carbohydrate status (Wardlaw, 1990; Spann *et al.*, 2008). The second mechanism is related to hormonal signaling. Inflorescences and fruits produce hormones, in particular, auxin and cytokinins (Sandip *et al.*, 2015). Several studies have shown that the basipetal auxin flow from the growing fruit inhibits the auxin flow out of the axillary buds (Waldie *et al.*, 2010; Domagalska and Leyser, 2011; Smith and Samach, 2013) and, consequently, prevents shoot outgrowth (Ferguson and Beveridge, 2009).

Focusing on significant relationships, it can be observed that the number of axes per GU was higher for fruiting ancestor GUs than for vegetative ancestor GUs for all cultivars and during both cycles (**Table 3**). This result was probably the consequence of the loss of apical control of the reproductive ancestor GUs for which the apical bud turned into an inflorescence. Apical control is defined by Wilson (2000) as the inhibition of lateral bud outgrowth by the apical bud. When the inflorescence or the fruit are no longer present on the shoot, the inhibitory effect of reproduction on bud outgrowth disappears (see previously). The outgrowth of lateral buds then occurs without apical bud and therefore without apical control, enabling the outgrowth of more lateral buds. In contrast, vegetative GUs have an active and permanent apical bud that is able to inhibit or limit the outgrowth of lateral buds (Normand *et al.*, 2009; Waldie *et al.*, 2010).

An increase in the reproductive effort of the ancestor GU leads to a decrease in the number and the leaf area of descendant GUs per axis. This could be due to the combination of two factors, one temporal and one architectural. The first one is linked to phenology. Vegetative growth is delayed on reproductive ancestor GUs (Dambreville *et al.*, 2013). The second factor is an architectural factor. A vegetative ancestor GU produces one apical GU, and possibly one or few lateral GUs. Apical GUs have larger leaf area and are able to branch more than lateral GUs (Normand *et al.*, 2009). An endogenous rhythm of two months between the burst of successive GUs has been detected in mango (Anwar *et al.*, 2011; Dambreville *et al.*, 2013). Consequently, vegetative ancestor GUs burst earlier and their descendant GUs can grow and branch one or several times during the vegetative growth season (**Figure 1**), thus resulting in more descendant GUs and a larger leaf area than reproductive ancestor GUs.

Various mechanisms of compensation often make it difficult to detect the costs of reproduction (Tuomi *et al.*, 1983; Obeso, 2002). On the basis of our results and the literature, it is possible to propose three mechanisms of compensation at the ancestor GU scale. The first one is the loss of apical control on reproductive ancestor GUs, leading to a higher number of descendant axes than on vegetative ancestor GUs (**Table 3**). The second one is the increased photosynthesis in leaves near growing mango fruits (Urban *et al.*, 2003, 2004), leading to a slower local depletion of carbohydrates. The third one is the timing of reproduction and



vegetative growth. A large part of vegetative growth occurs after harvest (**Figure 1**), therefore limiting direct competition with reproduction. These mechanisms could probably explain the non-significant or even positive  $R1 \rightarrow V$  relationships for Irwin and Kensington Pride (**Figure 7**). Despite these mechanisms, significant costs of reproduction on vegetative growth have been shown for José, Cogshall and Kensington Pride.

Vegetative growth had a linear and positive effect on reproduction ( $V \rightarrow R2$ ) for all cultivars and during both cycles (**Figures 5, 7**, Supplementary Figure 2). A positive and linear relationship has been similarly demonstrated between plant size and reproduction in *Arum italicum* (Méndez and Obeso, 1993). In ‘Hass’ avocado, vegetative growth is a key point enabling return bloom and fruit production (Lovatt, 2010). Since floral induction of mango occurs just before the burst of inflorescences (Davenport, 2009), and is therefore not affected by growing fruits of the previous cycle, two non-exclusive hypotheses could be proposed to explain our results. The first one is that a large leaf area stimulates flowering and fruiting for trophic reasons and also via the production of a florigenic promoter, detailed later in the discussion. The second hypothesis is related to demography. More terminal GUs means more potential fruiting sites and, potentially, more fruits. The linear relationships (**Figure 5**) suggested that the probability of fruiting was constant and independent of vegetative growth; otherwise, relationships would be non-linear. Their slopes differed between cultivars. A high slope indicated that a given increase in vegetative growth corresponded to a larger increase in the number of fruits produced compared to a lower slope. It denoted a kind of efficiency of vegetative growth to produce fruits. For example, Irwin showed higher slopes than the other cultivars during both cycles, and was able to produce as many fruits as the other cultivars with limited vegetative growth.

The  $R1 \rightarrow R2$  relationships are a combination of the  $R1 \rightarrow V$  and  $V \rightarrow R2$  relationships. They are generally negative, but with a marked cultivar effect (**Figure 7**). These negative relationships indicate delayed costs of reproduction on the subsequent reproduction. Three groups of cultivars could be distinguished: Irwin with no significant  $R1 \rightarrow R2$  effect during both cycles, José with negative effects during both cycles, and Cogshall and Kensington Pride with a negative effect during one cycle and no effect during the other cycle. Consequently, the costs of reproduction at the ancestor GU scale were high for José, null for Irwin, and intermediate for Cogshall and Kensington Pride. Previous studies revealed negative  $R \rightarrow R$  relationships. Current reproduction of *Vaccinium hirtum* reduces future reproductive output at the shoot level through competition with vegetative growth (Kawamura and Takeda, 2006). The results of Cogshall and Kensington Pride suggested that the cycle could affect the costs of reproduction at the ancestor GU scale, possibly through the effects of environmental conditions. Although they were similar for all trees within a given cycle, they could differ from one cycle to the other. The costs of reproduction may be influenced by environmental conditions such as soil characteristics (Biere, 1995), water availability (Euler *et al.*, 2012) and duration of growing season and altitude (Obeso 2002). Biere (1995) showed that they are greater in poor sites than in fertile sites. The consistent presence or absence of the costs of reproduction during both cycles for José and Irwin, respectively, suggested that the environment did not affect the behavior of these cultivars. It may be expected that high tree fruit load leads to higher and, therefore, more detectable costs of reproduction at the ancestor GU scale. Mean tree fruit load was low during cycle 0 and high during cycle 1 for Cogshall and Kensington Pride (**Table 1**), whereas the costs of reproduction were significant following cycle 0, and non-significant following cycle 1 for both cultivars. Mean tree fruit load was similar for José and Irwin during both cycles, whereas the costs of reproduction were significant for José and non-significant for Irwin during both cycles. These results suggest

that the costs of reproduction at the scale of the ancestor GU were not related to the mean tree fruit load and were consequently cultivar-dependent.

The fact that only negative or non-significant  $R1 \rightarrow R2$  relationships were revealed at the ancestor GU scale suggested that the negative effects of reproduction on vegetative growth were predominant over the positive impact of vegetative growth on reproduction. The general trend was that the higher the reproductive effort was, the less the vegetative growth would be during the following cycle and, consequently, the less fruits produced by this vegetative growth. The cultivar effects on the costs of reproduction were then mainly determined by the  $R1 \rightarrow V$  relationships, in particular, on the probability of burst of the ancestor GU.

## **1.2. Scale of the scaffold branch**

The effects of reproduction on vegetative growth ( $R1 \rightarrow V$ ) were not significant at the scaffold branch scale, except for Cogshall during cycle 1. We could expect that the results revealed at the ancestor GU scale were also seen at the scale of the scaffold branch by aggregation. When studying relationships at the scaffold branch scale on data normalized by the scaffold branch cross-sectional area, we made the implicit assumption of the autonomy of the scaffold branches, independently of their size. The absence of a significant relationship at the scale of the scaffold branch therefore revealed a partial autonomy with respect to the processes underlying these effects (Sprugel *et al.*, 1991; Obeso, 2002). This partial autonomy could be related to the exchanges of carbohydrates between scaffold branches or between scaffold branches and areas of carbohydrate storage such as the trunk and the roots. The allocation of carbohydrates to the growing mango fruits from other parts of the tree can be considerable (Stassen *et al.*, 1997; Davie *et al.*, 1999). The partial autonomy could then be interpreted as a mechanism of compensation of the costs of reproduction, interfering with their detection at the scaffold branch scale (Obeso, 2002). The other two compensatory mechanisms proposed at the scale of the ancestor GU, namely the increased photosynthesis and the timing of reproduction and vegetative growth, can be advanced at this scale too. Contrary to our results, competition between fruit load and subsequent vegetative development has been reported in apple where heavy fruit load decreases vegetative development (Jonkers, 1979; Forshey and Elfving, 1989) and secondary growth (Lauri *et al.*, 2010) in the same year. Similarly, the increase in plant biomass was lower when more reproductive structures were produced in the previous year in *Carex secalina*, a perennial monoecious species (Bogdanowicz *et al.*, 2011). Moreover, several studies have found that there are less new shoots during years of high fruit production than during years of low fruit production at the tree scale in pistachio (Weinbaum *et al.*, 1994; Brown *et al.*, 1995; Rosecrance *et al.*, 1996; Picchioni *et al.*, 1997).

In contrast, the relationships between vegetative growth and reproduction were significant at the scaffold branch scale for Kensington Pride during both cycles, Cogshall during cycle 1, and José during cycle 2, suggesting an autonomy of scaffold branches for the processes underlying flowering and fruiting, at least for these cultivars. Three processes could be proposed. The first one is at the branch scale and is related to shoot demography. Substantial vegetative growth means a high number of terminal GUs prone to flower and set fruit. The second process is at the scale of a group of GUs close to each other. In mango, a floral promoter is synthesized in the leaves and is able to move basipetally and acropetally in the phloem up to about 1 m to the potential flowering sites (Davenport *et al.*, 2006; Ramírez and Davenport, 2010). The third process is at the scale of the ancestor GUs and is related to its architectural and temporal traits (date of birth, fate, apical or lateral position) (Dambreville *et al.*, 2013) and to its morphology (Normand *et al.*, 2009), which affect its ability to flower and set fruit. These processes are local, at the branch scale or at a smaller scale, therefore

conferring branch autonomy with respect to these processes. The behavior at the scaffold branch scale is then the sum of the behavior of ancestor GUs. The number of fruits produced was not linked to vegetative growth at the scale of the scaffold branch during both cycles for Irwin, whereas it was the case at the ancestor GU scale. This result suggests a partial autonomy of Irwin branches with respect to the flowering and fruiting processes, with a more uniform allocation of carbohydrates to potential flowering points for example. Moreover, this cultivar showed a smaller range of leaf area at the scale of the scaffold branch compared to the other cultivars (**Figure 6**), making it more difficult to detect a significant relationship. Contrary to our results, negative relationships have been shown between leaf area and seed production in various species (Herben *et al.*, 2012). Moreover, Hulshof *et al.* (2012) showed a negative relationship between the relative growth rate of above-ground biomass and biomass allocated to reproduction in *Bursera simaruba* (L.).

The  $R1 \rightarrow R2$  relationships were a combination of the  $R1 \rightarrow V$  and  $V \rightarrow R2$  relationships at the scaffold branch scale. Those relationships were not significant, except for Cogshall. This probably resulted from the partial branch autonomy and the other mechanisms of compensation opposed to the negative effect of reproduction on vegetative growth ( $R1 \rightarrow V$ ). Cogshall showed costs of reproduction at the scaffold branch scale during the first cycle. In contrast, a positive relationship between  $R1$  and  $R2$  was revealed during cycle 2, and could be related to terminal GUs demography. Cogshall produced a larger number of terminal GUs on fruiting branches during cycle 2 (Supplementary Figure 2), leading to a large fruit production (Supplementary Figure 4).

## 2- Relationships between the costs of reproduction and irregular bearing

Our results showed a clear effect of the cultivar on the costs of reproduction. The costs of reproduction detected at the scale of the ancestor GU (**Figure 7**) discriminated three groups of cultivars: José with significant costs of reproduction during both cycles, Irwin with no cost of reproduction during both cycles, and Cogshall and Kensington Pride with costs of reproduction during cycle 1 and no cost of reproduction during cycle 2. These groups corresponded to the known fruiting pattern of these cultivars, with José being an irregular bearer, Irwin being a regular bearer and Kensington Pride and Cogshall being quite regular bearers (Campbell, 1992; Knight *et al.*, 2009; Dambreville *et al.*, 2014; unpublished data). However, the costs of reproduction could not be detected at the scaffold branch scale. The lack of detection of costs of reproduction at the scaffold branch scale does not imply that they do not occur at the tree scale (Obeso, 2002, 2004), which is the pertinent scale for studying irregular bearing.

Few studies have linked irregular bearing to the costs of reproduction. Pistachio, that, like the mango, belongs to the Anacardiaceae family, shows strong alternate bearing (Spann *et al.*, 2008; Rosenstock *et al.*, 2010). Stevenson and Shackel (1998) showed that alternate bearing corresponds to a switch in biomass partitioning between vegetative and reproductive growth. During the ‘off’ year, biomass is mainly allocated to vegetative growth rather than to fruit production.

## 3- Directions for future research

The process of domestication has led to the selection of genotypes with a high potential for fruit production compared to wild genotypes. Those genotypes therefore allocate more resources to reproduction, which could lead to higher costs of reproduction. These costs could then be easier to detect in agricultural selected genotypes (Obeso, 2002). For wild long-lived species like trees, survival seems to be more important than reproduction in any given year (Crawley, 1985, 1997). Further investigations could be carried out on both cultivated mango cultivars with contrasted fruiting patterns and on wild mango genotypes placed in the same



environment, in order to assess the effects of domestication on the costs of reproduction and associated compensatory mechanisms.

The costs of reproduction were not always detected in our study, even at the GU scale, suggesting different types of compensatory mechanisms at different scales, from the leaf to the whole tree. These mechanisms could be related to branch autonomy and to an increased efficiency of resource use (photosynthesis, carbohydrates and, possibly, water and nutrients). It would be interesting to study and better understand these mechanisms. This knowledge could be useful to identify relevant traits for the selection of regular bearer cultivars.

A complementary study could also be carried out to evaluate the costs of reproduction at the whole tree scale with an appropriate experimental design. Our experiment was designed to exhaustively capture data at the scales of the ancestor GUs and of the scaffold branches. This substantial experimental effort did not make it possible to record data on several trees per cultivar. The limited number of trees studied per cultivar ( $n=3$ ) was low compared to the large number of replications, e.g., 36 trees (Żywiec and Zielonka, 2013) or 60 trees (Obeso, 1997), generally used in studies addressing the measure of the costs of reproduction at the tree scale. Moreover, the costs of reproduction are often studied at the tree scale with manipulation, reduction or increase, of fruit production in order to maximize the range of reproductive effort (Obeso 2002; Sletvold and Ågren, 2015), which was not the case in our experiment. In some species such as *Lathyrus vernus*, the costs of reproduction are only detectable after manipulation of the reproductive effort (Ehrlén and Van Groenendael, 2001).

#### **4- Concluding remarks**

Studies on the costs of reproduction have been conducted on herbaceous perennial plants (Primack (1979) on *Plantago* sp.; Primack and Stacy (1998) on *Cypripedium acaule*) and on woody perennial plants (Cipollini and Stiles (1991) on *Nyssa sylvatica*; Obeso (1997) on *Ilex aquifolium*; Suzuki (2000) on *Eurya japonica*). To the best of our knowledge, our study is the first to carry out a comprehensive analysis of the costs of reproduction on a cultivated tree species.

We have shown that, globally, reproduction during one cycle had a negative effect on reproduction during the following cycle in mango. We also showed that vegetative growth that occurs between the two reproductive events mitigated this negative effect. These effects occurred mainly at the GU scale, less frequently at the scaffold branch scale, and were clearly cultivar-dependent.

#### **Author contributions**

FN designed the study and acquired data. MC, PEL, FN analyzed data, interpreted results, and wrote the paper. All of the authors read and approved the manuscript.

#### **Conflict of interest statement**

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be considered as a potential conflict of interest.

#### **Acknowledgments**

We would like to thank Doralice Jessu, Marie Darnaudery, Clarisse Magne and Armelle Renard for their technical assistance. We also thank the two reviewers for their helpful comments and suggestions. This work was funded by CIRAD, the Conseil Régional de l'île de la Réunion and the European Union (FEDER fund).

## References

- Anwar, R., Ahmad, S., Rajwana, I. A., Khan, A. S., Memon, N, and Nafees, M. (2011). Phenological growth patterns and floral malformation of mango (*Mangifera indica* L.) tree under subtropical climate. *Pak. J. Agr. Sci.* 48: 107-113.
- Ashman, T.-L. (1992). Indirect costs of seed production within and between seasons in a gynodioecious species. *Oecologia* 92: 266-272. doi: 10.1007/BF00317374
- Bangerth, F. (2009). Floral induction in mature, perennial angiosperm fruit trees: similarities and discrepancies with annual/biennial plants and the involvement of plant hormones. *Sci. Hortic.* 122: 153-163. doi: 10.1016/j.scienta.2009.06.014
- Barthélémy, D., and Caraglio, Y. (2007). Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Ann. Bot.* 99: 375-407. doi: 10.1093/aob/mcl260
- Berman, M. E., and DeJong, T. M. (2003). Seasonal patterns of vegetative growth and competition with reproductive sinks in peach (*Prunus persica*). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 78: 303-309.
- Biere, A. (1995). Genotypic and plastic variation in plant size: effects on fecundity and allocation patterns in *Lychnis flos-cuculi* along a gradient of natural soil fertility. *J. Ecol.* 83: 629-642. doi: 10.2307/2261631
- Bogdanowicz, A. M., Olejniczak, P., Lembicz, M., and Zukowski, W. (2011). Costs of reproduction in life history of a perennial plant *Carex secalina*. *Cent. Eur. J. Bio.* 6: 870-877. doi: 10.2478/s11535-011-0044-6
- Brown, P. H., Weinbaum, S. A., and Picchioni, G. A. (1995). Alternate bearing influences annual nutrient consumption and the total nutrient content of mature pistachio trees. *Trees* 9: 158-164. doi: 10.1007/BF02418205
- Campbell, R. J. (1992). *Guide to mangos in Florida*. Fairchild Botanical Garden, Miami, Florida, USA.
- Castillo-Llanque, F., and Rapoport, H. F. (2011). Relationship between reproductive behavior and new shoot development in 5-year-old branches of olive trees (*Olea europaea* L.). *Trees* 25: 823-832. doi: 10.1007/s00468-011-0558-6
- Chacko, E. K. (1986). Physiology of vegetative and reproductive growth in mango (*Mangifera indica* L.) trees. In: *Proceedings of the First Australian Mango Research Workshop*. Cairns, Qld., Australia, CSIRO, Melbourne, Vic, 54-70.
- Chan, B. G., and Cain, J. C. (1967). The effect of seed formation on subsequent flowering in apple. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 91: 63-67.
- Cipollini, M. L., and Stiles, E. W. (1991). Costs of reproduction in *Nyssa sylvatica*: sexual dimorphism in reproductive frequency and nutrient flux. *Oecologia* 86: 585-593. doi: 10.1007/BF00318326
- Connor, D. J., and Fereres, E. (2005). The physiology of adaptation and yield expression in olive. *Hortic. Rev.* 31: 155-229.
- Costes, E., Fournier, F., and Salles, J. C. (2000). Changes in primary and secondary growth as influenced by crop load in 'Fantasme' apricot trees. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 75: 510-519. doi: 10.1080/14620316.2000.11511277
- Crawley, M. J. (1985). Reduction of oak fecundity by low density herbivore population. *Nature* 314: 163-164.
- Crawley, M. J. (1997). Life history and environment. In: Crawley M. J. (Ed.) *Plant ecology*. Blackwell, Oxford, 156-213.
- Dambreville, A., Lauri, P.-É., Trottier, C., Guédon, Y., and Normand, F. (2013). Deciphering structural and temporal interplays during the architectural development of mango trees. *J. Exp. Bot.* 64: 2467-2480. doi: 10.1093/jxb/ert105

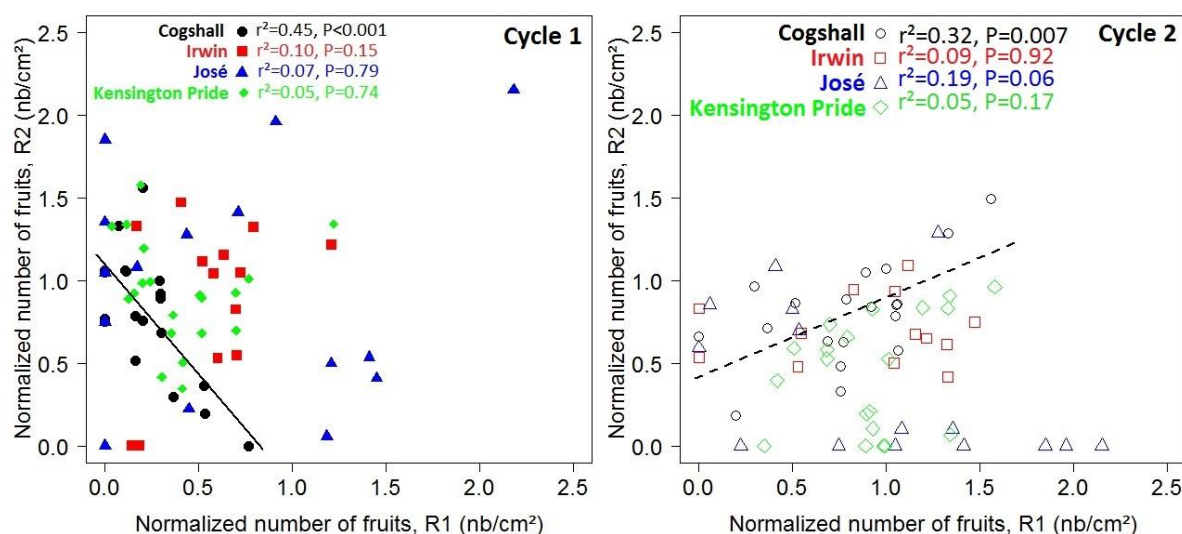
- Dambreville, A., Normand, F. and Lauri, P.-É. (2014). Alternating patterns of mango – Quantification at the growth unit level on four cultivars. *Acta Hortic.* 1058: 277-284. doi: 10.17660/ActaHortic.2014.1058.32
- Daniels, C., Mabusela, W., Marnewick, J., and Valentine, A. (2013). The carbon and nitrogen cost associated with the growth, reproductive and dormant phases of two South African semi-arid geophytic species of *Gethyllis* (Amaryllidaceae). *Aust. J. Bot.* 61: 528-537. doi: 10.1071/BT13191
- Davenport, T. L. (1990). Citrus flowering. *Hortic. Rev.* 12: 349-408. doi: 10.1002/9781118060858.ch8
- Davenport, T. L., Ying, Z., Kulkarni, V., and White, T. L. (2006). Evidence for a translocatable florigenic promoter in mango. *Sci. Hortic.* 110: 150-159. doi: 10.1016/j.scienta.2006.06.029
- Davenport, T. L. (2009). Reproductive physiology. In: Litz R. E. (Ed.) *The mango, Botany, Production and Uses* 2<sup>nd</sup> Edition, CAB International, Wallingford, 97-169.
- Davie, S. J., Stassen, P. J. C., and Grove, H. G. (1999). Starch reserves in the mango tree. *Acta Hortic.* 509: 335-346. doi: 10.17660/ActaHortic.2000.509.39
- Domagalska, M. A., and Leyser, O. (2011). Signal integration in the control of shoot branching. *Nat. Rev. Mol. Cell Bio.* 12: 211-221. doi: 10.1038/nrm3088
- Durand, J.-B., Guitton, B., Peyhardi, J., Holtz, Y., Guédon, Y., Trottier, C., and Costes, E. (2013). New insights for estimating the genetic value of segregating apple progenies for irregular bearing during the first years of tree production. *J. Exp. Bot.* 64 : 5099-5113. doi: 10.1093/jxb/ert297
- Ehrlén, J., and Van Groenendael, J. (2001). Storage and the delayed costs of reproduction in the understorey perennial *Lathyrus vernus*. *J. Ecol.* 89: 237-246. doi: 10.1046/j.1365-2745.2001.00546.x
- Euler, T. V., Ågren, J., and Ehrlén, J. (2012). Floral display and habitat quality affect cost of reproduction in *Primula farinosa*. *Oikos* 121: 1400-1407. doi: 10.1111/j.1600-0709.2012.20433.x
- FAO (ed.) (2011). *Save and grow. A policymaker's guide to the sustainable intensification of smallholder crop production*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 102. Available at: <http://www.fao.org/docrep/014/i2215e/i2215e.pdf>
- Ferguson, B. J., and Beveridge, C. A. (2009). Roles for auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching. *Plant Physiol.* 149: 1929-1944. doi: 10.1104/pp.109.135475
- Forshey, C. G., and Elfving, D. C. (1989). The relationship between vegetative growth and fruiting in apple trees. *Hortic. Rev.* 11: 229-287. doi: 10.1002/9781118060841.ch7
- Gerbaud, P. (2015). Dossier mangue. *FruiTrop* 230: 26-70.
- Goldschmidt, E. E., and Golomb, A. (1982). The carbohydrate balance of alternate-bearing citrus trees and significance of reserves for flowering and fruiting. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 107: 206-208.
- Guitton, B., Kelner, J.-J., Velasco, R., Gardiner, S. E., Chagné, D., and Costes, E. (2012). Genetic control of biennial bearing in apple. *J. Exp. Bot.* 63: 131-149. doi: 10.1093/jxb/err261
- Hallé, F., and Martin, R. (1968). Étude de la croissance rythmique chez l'hévéa (*Hevea brasiliensis* Müll. –Arg., Euphorbiacées, Crotonoïdées). *Adansonia* 8: 475-503.
- Herben, T., Nováková, Z., Klimešová, J., and Hrouda, L. (2012). Species traits and plant performance: functional trade-offs in a large set of species in a botanical garden. *J. Ecol.* 100: 1522-1533. doi: 10.1111/j.1365-2745.2012.02018.x
- Hulshof, C. M., Stegen, J. C., Swenson, N. G., Enquist, C. A. F., and Enquist, B. J. (2012). Interannual variability of growth and reproduction in *Bursera simaruba*: the role of allometry and resource variability. *Ecology* 93: 180-190. doi: 10.1890/11-0740.1

- Jonkers, H. (1979). Biennial bearing in apple and pear: a literature survey. *Sci. Hortic.* 11: 303-317. doi: 10.1016/0304-4238(79)90015-3
- Jönsson, I. (2000). Life history consequences of fixed costs of reproduction. *Ecoscience* 7: 423-427.
- Kawamura, K., and Takeda, H. (2006). Cost and probability of flowering at the shoot level in relation to variability in shoot size within the crown of *Vaccinium hirtum* (Ericaceae). *New Phytol.* 171: 69-80. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01737.x
- Knight, R. J., Campbell, R. J., and Maguire, I. (2009). Important Mango Cultivars and their Descriptors. In: Litz R. E. (Ed.) *The mango, Botany, Production and Uses* 2<sup>nd</sup> Edition, CAB International, Wallingford, 42-66.
- Lauri, P.-É., and Térouanne, É. (1999). Effects of inflorescence removal on the fruit set of the remaining inflorescences and development of the laterals on one year old apple (*Malus domestica* Borkh) branches. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 74: 110-117. doi: 10.1080/14620316.1999.11511082
- Lauri, P.-É., and Trottier, C. (2004). Patterns of size and fate relationships of contiguous organs in the apple (*Malus domestica*) crown. *New Phytol.* 163: 533-546. doi: 10.1111/j.1469-8137.2004.01136.x
- Lauri, P.-É., Kelner, J. J., Trottier, C., and Costes, E. (2010). Insights into secondary growth in perennial plants: its unequal spatial and temporal dynamics in the apple (*Malus domestica*) is driven by architectural position and fruit load. *Ann. Bot.* 105: 607-616. doi: 10.1093/aob/mcq006
- Lovatt, C. J. (2010). Alternate bearing of 'Hass' avocado. *Calif Avocado Soc Yearb.* 93: 125-40.
- Marino, F., and Greene, W. (1981). Involvement of gibberellins in the biennial bearing of 'Early McIntosh' apples. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 106: 593-596.
- Méndez, M., and Obeso, J. R. (1993). Size-dependent reproductive and vegetative allocation in *Arum italicum* (Araceae). *Can. J. Bot.* 71: 309-314. doi: 10.1139/b93-032
- Miyazaki, Y., Hiura, T., Kato, E., and Funada, R. (2002). Allocation of resources to reproduction in *Styrax obassia* in a masting year. *Ann. Bot.* 89: 767-772. doi: 10.1093/aob/mcf107
- Monselise, S. P., and Goldschmidt, E. E. (1982). Alternate bearing in fruit trees. *Hortic. Rev.* 4: 128-173.
- Mukherjee, S. K., and Litz, R. E. (2009). Introduction: Botany and Importance. In: Litz R. E. (Ed.) *The mango, Botany, Production and Uses* 2<sup>nd</sup> Edition, CAB International, Wallingford, 1-18.
- Muñoz-Fambuena, N., Mesejo, C., González-Mas, M. C., Primo-Millo, E., Agustí, M., and Iglesias, D. J. (2011). Fruit load modulates flowering-related gene expression in buds of alternate-bearing 'Moncada' mandarin. *Ann. Bot.* 110: 1109-1118. doi: 10.1093/aob/mcs190
- Newell, E. A. (1991). Direct and delayed costs of reproduction in *Aesculus californica*. *J. Ecol.* 79: 365-378. doi: 10.2307/2260719
- Normand, F., Bissery, C., Damour, G., and Lauri, P.-É. (2008). Hydraulic and mechanical stem properties affect leaf-stem allometry in mango cultivars. *New Phytol.* 178: 590-602. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02380.x
- Normand, F., Pambo Bello, A. K., Trottier, C., and Lauri, P.-É. (2009). Is axis position within tree architecture a determinant of axis morphology, branching, flowering and fruiting? An essay in mango. *Ann. Bot.* 103: 1325-1336. doi: 10.1093/aob/mcp079
- Normand, F., and Lauri, P.-É. (2012). Assessing allometric models to predict vegetative growth of mango (*Mangifera indica*; Anacardiaceae) at the current-year branch scale. *Amer. J. Bot.* 99: 425-437. doi: 10.3732/ajb.1100249

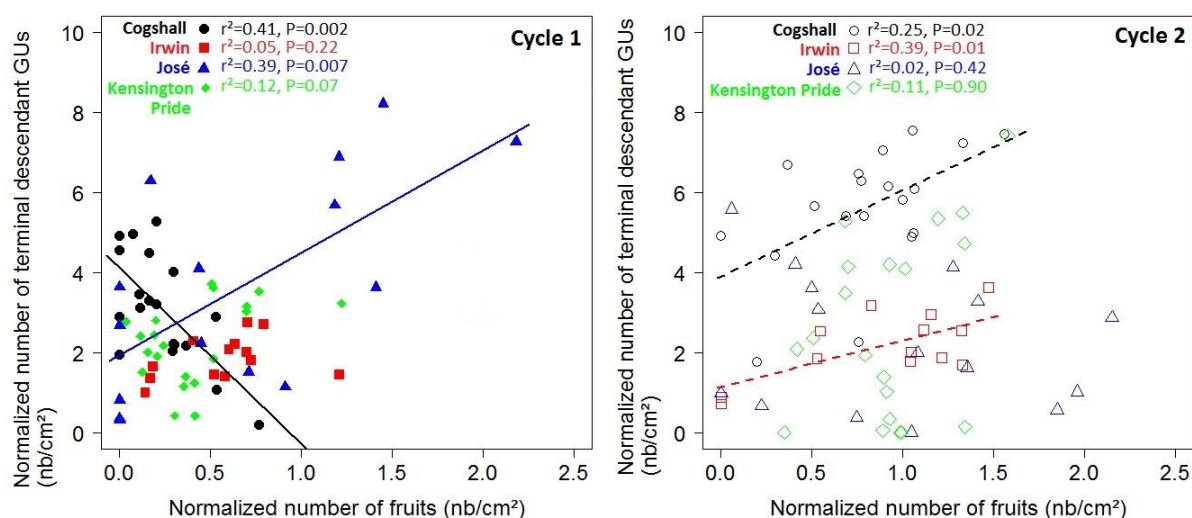
- Obeso, R. (1997). Costs of reproduction in *Ilex aquifolium*: effects at tree, branch and leaf levels. *J. Ecol.* 85: 159-166. doi: 10.2307/2960648
- Obeso, R. (2002). The costs of reproduction in plants. *New Phytol.* 155: 321-348. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00477.x
- Obeso, R. (2004). A hierarchical perspective in allocation to reproduction from whole plant to fruit and seed level. *Persp. Plant Ecol. Evol. Syst.* 6: 217-225. doi: 10.1078/1433-8319-00080
- Picchioni, G. A., Brown, P. H., Weinbaum, S. A., and Muraoka, T. T. (1997). Macronutrient allocation to leaves and fruit of mature, alternate bearing pistachio trees: Magnitude and seasonal patterns at the whole canopy level. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122: 267-274.
- Plummer, J. A. (1987). *Shoot growth and flowering in Citrus sinensis (L.) Osbeck and related species*. PhD diss. Univ. Sydney, New S. Wales, Australia
- Primack, R. B. (1979). Reproductive effort in annual and perennial species of *Plantago* (Plantaginaceae). *Amer. Nat.* 114: 51-62.
- Primack, R., and Stacy, E. (1998). Cost of reproduction in the pink lady's slipper orchid (*Cypripedium acaule*, Orchidaceae): an eleven-year experimental study of three populations. *Amer. J. Bot.* 85: 1672-1679.
- Purseglove, J. W. (1972). Mangoes in west of India. *Acta Hort.* 24: 107-174.
- R Development Core Team. (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org>.
- Ramírez, F., and Davenport, T. L. (2010). Mango (*Mangifera indica* L.) flowering physiology. *Sci. Hortic.* 126: 65-72. doi: 10.1016/j.scienta.2010.06.024
- Reznick, D. (1985). Cost of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos* 44: 257-267. doi: 10.2307/3544698
- Rosecrance, R. C., Weinbaum, S. A., and Brown, P. H. (1996). Assessment of nitrogen, phosphorus, and potassium uptake capacity and root growth in mature alternate-bearing pistachio (*Pistacia vera* L.) trees. *Tree Physiol.* 16: 949-956. doi: 10.1093/treephys/16.11-12.949.
- Rosecrance, R. C., Weinbaum, S. A., and Brown, P. H. (1998). Alternate bearing affects nitrogen, phosphorus, potassium and starch storage pools in mature pistachio trees. *Ann. Bot.* 82: 463-470. doi: 10.1006/anbo.1998.0696
- Rosenstock, T. S., Rosa, U. A., Plant, R. E., and Brown, P. H. (2010). A reevaluation of alternate bearing in pistachio. *Sci. Hortic.* 124: 149-152. doi: 10.1016/j.scienta.2009.12.007
- Samach, A., and Smith, H. M. (2013). Constraints to obtaining consistent annual yield in perennials. II: Environment and fruit load affect induction of flowering. *Plant Sci.* 207: 168-176. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.02.006
- Sandip, M., Makwana, A. N., Barad, A. V., and Nawade, B. D. (2015). Physiology of flowering – The case of mango. *Int. J. Appl. Res.* 1: 1008-1012.
- Sletvold, N., and Ågren, J. (2015). Nonlinear costs of reproduction in a long-lived plant. *J. Ecol.* 130: 1205-1213. doi: 10.1111/1365-2745.12430
- Smith, H. M., and Samach, A. (2013). Constraints to obtaining consistent annual yields in perennials. I: Heavy fruit load limits vegetative growth. *Plant Sci.* 207: 158-167. doi: 10.1016/j.plantsci.2013.02.014
- Spann, T. M., Beede, R. H., and Dejong, T. M. (2008). Seasonal carbohydrate storage and mobilization in bearing and non-bearing pistachio (*Pistacia vera*) trees. *Tree Physiol.* 28: 207-213. doi: 10.1093/treephys/28.2.207
- Sprugel, D. G., Hinckley, T. M., and Schaap, W. (1991). The theory and practice of branch autonomy. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 22: 309-334.

- Stassen, P. J. C., Janse van Vuuren, B. P. H., and Davie, S. J. (1997). Preliminary studies on macro-element utilization by Hass avocado trees. *South African Avocado Growers Association* 20: 68-73.
- Stevenson, M. T., and Shackel, K. A. (1998). Alternate bearing in pistachio as a masting phenomenon: construction cost of reproduction versus vegetative growth and storage. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 123: 1069-1075.
- Stevenson, M. T., Shackel, K. A., and Ferguson, L. (2000). Shoot length distribution and its relation to yield of alternate-bearing pistachio trees. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 125: 165-168.
- Suzuki, A. (2000). Patterns of vegetative growth and reproduction in relation to branch orders: the plant as a spatially structured population. *Trees* 14: 329-333. doi: 10.1007/s004680050226
- Thomas, S. C., and Winner, W. E. (2002). Photosynthetic differences between saplings and adult trees: an integration of field results by meta-analysis. *Tree Physiol.* 22: 117-127. doi: 10.1093/treephys/22.2-3.117
- Toivonen, E., and Mutikainen, P. (2012). Differential costs of reproduction in females and hermaphrodites in a gynodioecious plant. *Ann. Bot.* 109: 1159-1164. doi: 10.1093/aob/mcs037
- Tuomi, J., Niemelä, P., and Mannila, R. (1982). Resource allocation on dwarf shoots of birch (*Betula pendula*): reproduction and leaf growth. *New Phytol.* 91: 483-487. doi: 10.1111/j.1469-8137.1982.tb03326.x
- Tuomi, J., Hakala, T., and Haukioja, E. (1983). Alternative concepts of reproductive effort, costs of reproduction, and selection in life-history evolution. *Amer. Zool.* 23: 25-34. doi: 10.1093/icb/23.1.25
- Urban, L., Le Roux, X., Sinoquet, H., Jaffuel, S., and Jannoyer, M. (2003). A biochemical model of photosynthesis for mango leaves: evidence for an effect of the fruit on photosynthetic capacity of nearby leaves. *Tree Physiol.* 23: 289-300. doi: 10.1093/treephys/23.5.289
- Urban, L., Léchaudel, M., and Lu, P. (2004). Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. *J. Exp. Bot.* 55: 2075-2085. doi: 10.1093/jxb/erh220
- Waldie, T., Hayward, A., and Beveridge, C. A. (2010). Axillary bud outgrowth in herbaceous shoots: how do strigolactones fit into the picture? *Plant Mol. Biol.* 73: 27-36. doi: 10.1007/s11103-010-9599-2
- Wardlaw, I. F. (1990). The control of carbon partitioning in plants. *New Phytol.* 116: 341-381. doi: 10.1111/j.1469-8137.1990.tb00524.x
- Weinbaum, S., Picchioni, G., Muraoka, T. T., Ferguson, L., and Brown, P. (1994). Fertilizer nitrogen and boron uptake, storage, and allocation vary during the alternate-bearing cycle in pistachio trees. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 119: 24-31.
- Wilkie, J. D., Sedgley, M., and Olesen, T. (2008). Regulation of floral initiation in horticultural trees. *J. Exp. Bot.* 59: 3215-3228. doi: 10.1093/jxb/ern188
- Wilson, B. F. (2000). Apical control of branch growth and angle in woody plants. *Amer. J. Bot.* 59: 573-594.
- Żywiec, M., and Zielonka, T. (2013). Does a heavy fruit crop reduce the tree ring increment? Results from a 12-year study in a subalpine zone. *Trees* 27: 1365-1373 doi: 10.1007/s00468-013-0884-y

## Supplementary Figures

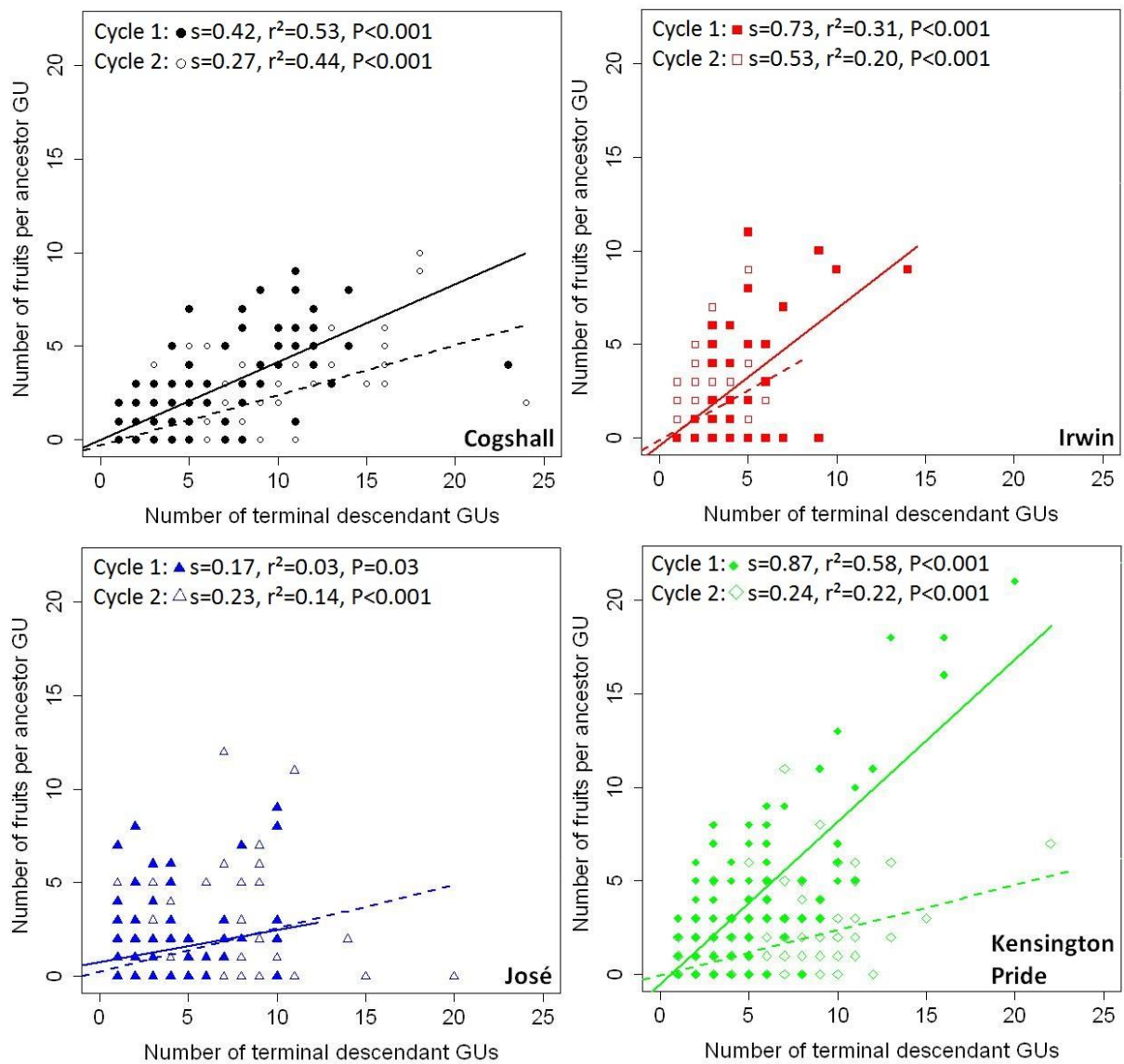


**Figure S1** Relationships between the normalized number of fruits produced during the previous cycle and the normalized number of fruits produced during the current cycle at the scaffold branch scale for four mango cultivars, Cogshall, Irwin, José, and Kensington Pride, and two growing cycles. The coefficient of determination ( $r^2$ ) and P-value associated with linear adjustments are given in the figure. Regression lines are presented for significant relationships ( $P<0.05$ ).



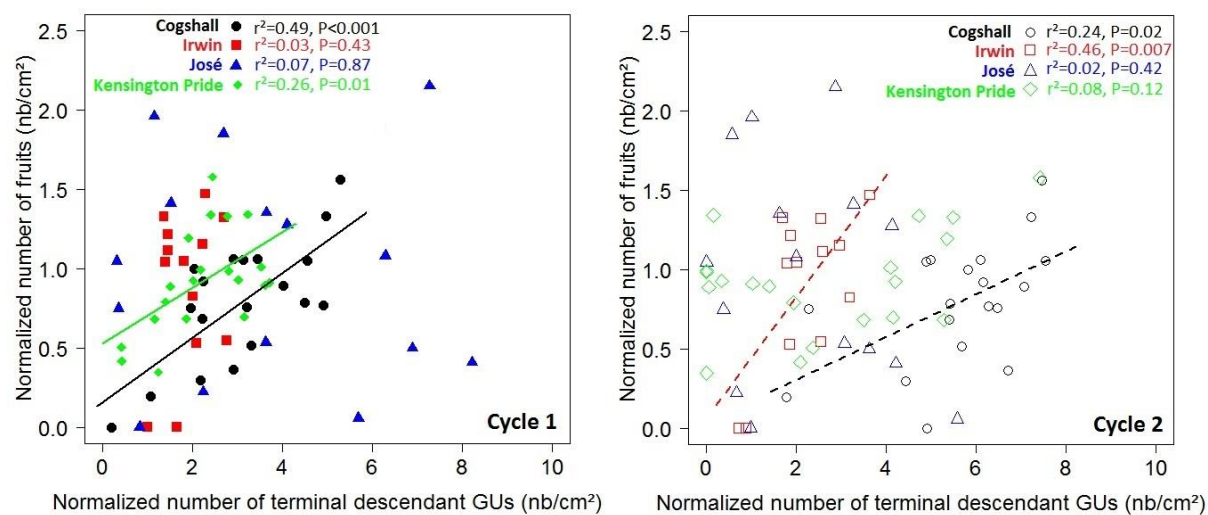
**Figure S2** Relationships between the normalized number of fruits produced during the previous cycle and the normalized number of terminal descendant growth units (GUs) produced during the current cycle at the scaffold branch scale for four mango cultivars, Cogshall, Irwin, José, and Kensington Pride, and two growing cycles. The coefficient of determination ( $r^2$ ) and P-value associated with linear adjustments are given in the figure. Regression lines are presented for significant relationships ( $P<0.05$ ).





**Figure S3** Relationships between the number of terminal descendant growth units (GUs) produced by each ancestor GU and the number of fruits produced by these terminal descendant GUs for four mango cultivars, Cogshall, Irwin, José, and Kensington Pride, and two growing cycles. The slope (s), coefficient of determination ( $r^2$ ) and P-value associated with linear adjustments (cycle 1: solid line; cycle 2: dotted line) are given for each cycle.





**Figure S4** Relationships between the number of terminal descendant growth units (GUs) produced during a cycle and the number of fruits produced during this cycle at the scaffold branch scale for four mango cultivars, Cogshall, Irwin, José, and Kensington Pride, and two growing cycles. The coefficient of determination ( $r^2$ ) and P-value associated with the linear adjustments are given in the figure. Regression lines are presented for significant relationships ( $P < 0.05$ ).

## Synthèse des résultats de la section 1

L'étude des séries des huit premières années de production à l'échelle de l'arbre et le calcul d'indices caractérisant la régularité de production sur ces séries nous a permis de mettre en évidence différents patterns de production suivant les cultivars, alors qu'ils se trouvaient dans les mêmes conditions environnementales et de cultures. Sur cette base, quatre cultivars au comportement contrasté ont été sélectionnés pour la caractérisation des coûts de la reproduction : Kensington Pride et Irwin (cultivars réguliers), Cogshall (cultivar assez irrégulier), José (cultivar alternant).

Nous avons mis en évidence un effet négatif de la reproduction au cours d'un cycle sur la reproduction au cycle suivant ( $R1 \searrow R2$ ), et un effet négatif de la reproduction au cours d'un cycle sur la croissance végétative au cycle suivant ( $R1 \searrow V$ ). Ces relations négatives correspondent à des coûts de la reproduction d'après la définition d'Obeso (2002).

Nous avons mis en évidence un effet positif de la croissance végétative sur la reproduction au cours d'un cycle ( $V \nearrow R2$ ). Ces relations sont positives à l'échelle de l'UC et de la charpentière dans la plupart des cas.

L'effet négatif de la reproduction sur la croissance végétative est prédominant sur l'effet positif de la croissance végétative sur la reproduction ( $R1 \searrow V \gg V \nearrow R2$ ) puisque des effets négatifs ont été mis en évidence entre les deux phases de reproduction ( $R1 \searrow R2$ ).

Les coûts de la reproduction ont été détectés principalement à l'échelle de l'unité de croissance, plus rarement à l'échelle de la charpentière. Ces résultats suggèrent l'existence de mécanismes de compensation des coûts de la reproduction aux trois échelles étudiées, et notamment une autonomie partielle des charpentières pour les mécanismes liés au développement végétatif.

→ La décomposition de la croissance végétative en variables élémentaires a permis de mettre en évidence que la **probabilité de débourrement** d'une UC apparait comme une variable clé dans l'effet négatif de la reproduction sur la croissance végétative car elle est particulièrement affectée par la reproduction, notamment la présence de fruits sur l'UC. Cela entraîne une croissance végétative plus faible à la fin de la saison de croissance, et une floraison et fructification portées par cette croissance qui sont réduites.

On peut considérer que le concept des coûts de la reproduction est un bon cadre d'analyse des interactions fines entre croissance végétative et reproduction, nous permettant d'étudier l'irrégularité de production sur le manguier, puisque nous avons mis en évidence différents coûts de la reproduction entre les cultivars, en relation avec leur comportement plus ou moins régulier de production :

- Irwin : faible coûts de la reproduction, pattern de production régulier avec variation alternante
- Kensington Pride : faible coûts de la reproduction, pattern de production régulier avec variation irrégulière
- Cogshall : coûts de la reproduction intermédiaires, pattern de production irrégulier avec variation irrégulière
- José : fort coûts de la reproduction, pattern de production alternante

## **2. Identification des mécanismes impliqués dans les coûts de la reproduction**

Cette section présente les résultats concernant la compréhension de certains mécanismes impliqués dans les coûts directs et dans les coûts retardés de la reproduction du manguier.

Cette section est divisée en deux parties :

A. Les effets de la reproduction et de la croissance végétative sur la morphologie, l'anatomie et les caractéristiques hydrauliques des UCs porteuses.

B. L'étude de mécanismes trophiques et hormonaux pour expliquer les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif.

## A. Effets de la reproduction sur la morphologie, l'anatomie et les caractéristiques hydrauliques de l'axe porteur

### ARTICLE 4 – Differential Effects of Reproductive and Vegetative Growth on the Anatomy and Hydraulic Traits of Mango Growth Units.

En révision pour « Annals of Botany »

Capelli, M., Lauri, P.-É., and Normand, F. (2017). Differential Effects of Reproductive and Vegetative Growth on the Anatomy and Hydraulic Traits of Mango Growth Units. In review to *Annals of Botany*.



Cet article correspond à l'étude des effets de la mise en place de la reproduction (inflorescences et fruits) et de la croissance végétative sur la morphologie, l'anatomie et les caractéristiques hydrauliques de l'axe porteur. L'étude a comparé deux cultivars, Cogshall et José, et a porté sur deux cycles de production 2014-2015 et 2015-2016.

Dans un premier temps, les effets de la reproduction et de la croissance végétative sur la morphologie (diamètre) et l'anatomie (xylème, phloème, sclérenchyme) des UCs porteuses sont étudiés.

Dans un second temps, les conséquences de ces modifications sur les caractéristiques hydrauliques des UCs porteuses sont analysées.

# Differential Effects of Reproductive and Vegetative Growth on the Anatomy and Hydraulic Traits of Mango Growth Units

Mathilde Capelli<sup>1</sup>, Pierre-Éric Lauri<sup>2</sup> and Frédéric Normand<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Cirad, UPR HortSys, 97455 Saint-Pierre Cedex, Reunion Island, France and <sup>2</sup>INRA, UMR System, Campus Montpellier SupAgro, 34060 Montpellier, France

\* For correspondence. [normand@cirad.fr](mailto:normand@cirad.fr) +262 (0)2 62 96 93 64

## ABSTRACT

- **Background and Aims** The two main functions of plant axes are vascular supply and mechanical support, ensured by specialized tissues such as xylem, phloem and sclerenchyma. Fruit growth and vegetative growth have different needs in terms of water and carbohydrate supply as well as of mechanical support. We hypothesized that they consequently affect the anatomy and hydraulic traits of bearing axes in different ways.
- **Methods** Quiescent, reproductive and vegetative terminal growth units of two mango (*Mangifera indica* L.) cultivars, Cogshall and José, were sampled at five phenological periods during two consecutive growing cycles. Growth unit diameter was recorded before sampling. Xylem, phloem and sclerenchyma were characterized through histological analyses, and maximal hydraulic conductivity was measured.
- **Key Results** Fruit growth led to the development of phloem in both cultivars, and to the development of xylem and sclerenchyma in Cogshall. Vegetative growth led to the development of xylem in both cultivars, and to the development of sclerenchyma in José. Maximal and specific hydraulic conductivity were generally higher in vegetative than in quiescent growth units. This result was observed to a lesser extent in reproductive growth units, in particular for José. Relative xylem efficiency was low for both cultivars. Significant differences were revealed between the cultivars in terms of hydraulic conductivity and anatomical traits.
- **Conclusions** This study highlighted the differential functioning of cambium, depending on the type of organ developing on the growth unit. In relation to the carbohydrate requirements of the developing organ, cambium mainly produced phloem during fruit growth and xylem during vegetative growth. Genotype affected the anatomy and the hydraulic performance of the growth units, as well as the evolution of growth units to supply and support fruit growth. In contrast, changes were similar for both genotypes in response to vegetative growth.

**Key words:** cultivar, fruit growth, hydraulic conductivity, *Mangifera indica* L., phloem, sclerenchyma, vegetative growth, xylem.

## INTRODUCTION

The two main functions of plant axes are vascular supply and mechanical support (Taneda and Tatenno, 2004). Vascular supply for the transport of sap is provided by two tissues. The first one is the xylem, composed of dead cells surrounded by lignin that transport crude sap containing mainly water and minerals, from roots to leaves and fruits (Cochard and Granier, 1999). The transport capacity of an axis depends on the anatomical characteristics of the xylem, which is related to the number of xylem vessels (xylem area and density of vessels) and especially to the vessel diameter. The second tissue is the phloem, composed of living cells that transport elaborated sap composed mainly of water and carbohydrates from the source organs to the sink organs (Lalonde *et al.*, 2004). Mechanical support for young axes is provided by sclerenchyma and then by wood composed of xylem lignified cells that provide hardness and strength (Baas *et al.*, 2004). Secondary meristems such as cambium produce xylem and phloem (Spicer and Groover, 2010), providing the necessary mechanical support and sap transport for vegetative and fruit growth. Vegetative and fruit growth have specific needs in terms of water and/or carbohydrate supply. This raises questions about the effects of fruit growth and vegetative growth on the vascular supply and mechanical support functions of the axes within an anatomical and hydraulic perspective.

Growing fruits are associated with different ingoing and outgoing fluxes in the xylem and phloem (Fishman and Génard, 1998) that supply them with water, minerals and carbohydrates (Lang and Thorpe, 1989; Morandi *et al.*, 2007, 2010; Nordey *et al.*, 2014). During fruit growth, a decrease of xylem fluxes was revealed in several studies (Drazeta *et al.*, 2004; Morandi *et al.*, 2010; Mazzeo *et al.*, 2013), whereas phloem fluxes remain constant (Morandi *et al.*, 2010) or even increase (Brüggenwirth *et al.*, 2016), leading to the accumulation of carbohydrates in fruits (Léchaudel *et al.*, 2002, 2005). However, even if these fluxes are well studied, they are rarely linked to axis anatomy, i.e., xylem and phloem area, number and size of xylem vessels, etc. Moreover, growing fruits represent a non-negligible mass on the bearing axis, requiring an appropriate mechanical support to avoid breakage. The effects of fruit growth on the mechanical support of bearing axes, in relation to sclerenchyma and xylem tissues, have rarely been studied.

Vegetative growth corresponds to the development of new leaf area, increasing the transpiration, mass and wind surface area of the bearing axis. The development of vasculature and supporting tissues can be expected to be concomitant with vegetative growth. From a hydraulic perspective, the 'pipe model' (Shinozaki *et al.*, 1964a, b) states that the amount of leaves is closely correlated with the cross-sectional area of the axis supporting them and, in particular, to the xylem area. Allometric relationships link leaf size to the size of the axis that supports them, and they are shaped by the hydraulic and mechanical properties of the axis (Woodrum *et al.*, 2003; Taneda and Tanedo, 2004; Normand *et al.*, 2008). The leaf size-axis size spectrum is a leading dimension of ecological variation among species (Westoby *et al.*, 2002; Wright *et al.*, 2007) and it is widely debated in ecology. However, these studies rarely consider the effects of vegetative growth on the anatomy of the conducting and supporting tissues of the axis.

The aim of this study was to investigate the effects of reproductive and vegetative growth on the anatomy and on the hydraulic conductivity of the bearing axes of two mango (*Mangifera indica* L.) cultivars, Cogshall and José, characterized by contrasted origins, growth habits and hydraulic properties. Our specific objectives were to answer three main questions: What are the respective effects of the reproductive and vegetative growth on conducting and supporting tissues? Is hydraulic conductivity of the bearing axis modified accordingly? Are these effects cultivar-dependent? We hypothesized that: (i) fruit growth the in terminal position on the bearing axis would increase xylem and phloem areas in the bearing

axis in order to supply growing fruits with water and carbohydrates, and the sclerenchyma area in order to mechanically support fruit mass; (ii) vegetative growth would increase xylem and sclerenchyma areas in order to supply necessary hydraulic fluxes related to higher transpiration due to supplementary leaf area, and to sustain the whole structure; and (iii) the development of xylem would increase maximal hydraulic conductivity of the bearing axis in both cases.

## MATERIALS AND METHODS

### *Study area and plant material*

The experimental orchard was located at the CIRAD (French Agricultural Research Centre for International Development) research station in Saint-Pierre, Reunion Island, in the Southern hemisphere (21°19'21S; 55°29'25E). It was composed of ten mango cultivars with 19 trees per cultivar, all grafted onto the polyembryonic rootstock ‘Maison Rouge’ and planted in October 2007. Two of these cultivars, Cogshall and José, were chosen for the study, based on their different origins, growth habits and hydraulic properties (Campbell, 1992; Vincenot, 2004; Normand *et al.*, 2008) (Table 1).

TABLE 1. *Characteristics of the studied mango cultivars Cogshall and José*

Characteristics	Cogshall	José
Origin	Florida	Réunion
Canopy	Dense and compact	Open
Tree size	Medium	Medium
Bearing habit	Quite regular	Irregular
Growth unit hydraulic conductivity	High	Low

The growing cycle (GC) of the mango tree is composed of four main phenological periods: vegetative growth, rest period, flowering and fruiting (Dambreville *et al.*, 2013a). Vegetative growth occurs through the growth of new shoots, referred to as growth units (GUs) and defined as the portion of the axis developed during an uninterrupted period of growth (Hallé and Martin, 1968; Barthélémy and Caraglio, 2007). Vegetative growth may begin at the end of flowering and during fruit growth, and mainly occurs after harvest, during the hot and rainy season. Mango flowering is made up of inflorescences that appear at the apex and in the axillary position in the distal part of terminal GUs (terminal flowering). Only some inflorescences set fruits. GUs can therefore have different fates during the reproductive period: they can remain quiescent, i.e., they do not set any organ (inflorescence, fruit or new GU); or they can be reproductive, i.e., flower or flower and set fruit, or they can be vegetative, i.e., produce new GU(s). Some GU fates can be found during different phenological periods, such as GUs that remain quiescent over an entire growing cycle.

### *Experimental design and data collection*

The experiment was carried out over two consecutive growing cycles: growing cycle 1, GC1, in 2014/2015, and growing cycle 2, GC2, in 2015/2016. Five sampling dates were considered during each growing cycle: rest period (June/July), flowering (September/October), mid fruit growth (November/December), fruit ripeness, i.e., harvest (January/February), and vegetative growth (March/April).

GUs can be in apical or in lateral positions, i.e., stemming from the apical or lateral buds of the previous GU. Morphological and functional differences have been shown between apical and lateral GUs (Normand *et al.*, 2009; Dambreville *et al.*, 2013a). For the sake of consistency, we sampled lateral GUs. Quiescent, reproductive and vegetative GUs were sampled. Quiescent GUs were sampled at five dates of each GC. Reproductive GUs corresponded to terminal GUs that set one or several inflorescence(s) during flowering, and that bore one or several fruit(s) during fruit growth until harvest. During vegetative growth, reproductive GUs that bore fruit(s) several weeks before were sampled, although fruit(s) was (were) no longer present on these GUs. The reproductive GUs necessary for the experiment were labelled during flowering and during mid fruit growth in order to have all GUs identified until the last sampling dates of the GCs. They were therefore sampled at four dates of the GCs, from flowering onward. Vegetative GUs corresponded to GUs that remained quiescent during the flowering and fruiting periods, and that produced one new GU during the following vegetative growth period. They were sampled only during the last sampling date, when the new GU was completely expanded and mature (i.e., stage H; Dambreville *et al.*, 2015). Five GUs were sampled at each date and for each fate during GC1. However, high variability was observed in the data for both cultivars. The number of replications was therefore increased during GC2, from n=5 to n=10, in order to increase the power of statistical tests.

Hydraulic conductivity varies with GU diameter (Tyree and Zimmermann, 2002). Our hypothesis on the development of conducting and supporting tissues in the GU axis in relation to reproductive and vegetative growth implies an increase of GU diameter over time for some GU fates. Preliminary measurements showed that the mean diameters of quiescent GUs of Cogshall ( $5.6 \pm 0.4$  mm) and José ( $4.7 \pm 0.6$  mm) cultivars were significantly different ( $P < 0.001$ ). This made it difficult to evaluate the effects of the GU fate, sampling date and cultivar on the GU hydraulic conductivity. Two options were then possible for the experimental methodology. The first one was to sample GUs independently of their diameter and to study the specific maximal hydraulic conductivity, i.e., the maximal hydraulic conductivity normalized by the GU cross-sectional area (csa). However, this method could lead to high variability in GU diameter and hydraulic conductivity. The second option was to sample GUs with similar diameters, as was done in several studies (Patiño *et al.*, 1995; Vander Willigen *et al.*, 2000; Normand *et al.*, 2008). Based on preliminary measurements, a 5-mm GU diameter was a common suitable size for both cultivars, close to their respective mean GU diameter. However, for certain dates and GU fates, diameters were systematically larger. In these cases, GUs with the smallest diameter were sampled in order to be close to 5 mm. Since it was not possible to sample GUs with the same diameter during the whole experiment, specific maximal hydraulic conductivity and GU diameter were considered for data analyses.

GU diameter was measured before sampling with a digital caliper and was converted into GU csa assuming a circular section. A 10-cm-long distal segment was sampled for each GU. The basal part of the sampled segment, c. 7 cm, was used for immediate hydraulic measurements (during both GCs), and the apical part, c. 3 cm, was conserved in a fixative (see below) for the histological study (carried out during GC1).

### *Measurements of maximal hydraulic conductivity*



Just after sampling, all leaves were removed from the GU segment. The defoliated segment was then wrapped with Teflon tape to prevent lateral leaks. Bark at the two ends of the segment was removed, and about 1 cm was cut from each extremity of the segment to remove air bubbles consecutive to cutting and to avoid occlusion of vessels with latex (Damour, 2008). Numerous laticiferous canals are present in the mango tree. They contain latex that can obstruct the xylem vessels by spreading over the segment section (Venning, 1948).

The maximal hydraulic conductance was then measured with the Sperry *et al.* (1988) method using the XYL'EM apparatus (Xylem Embolism Meter, INRA Licensed Instrutec, Montigny-les-Cormeilles, France). Hydraulic conductance,  $C$  ( $\text{mmol.s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ ), is defined as the ratio between the water flux through the GU axis and the pressure gradient within the axis (Tyree and Zimmermann, 2002). Since we were interested in the maximal conductance and conductivity, each sample was flushed with degassed and deionized water at high pressure, 0.2 MPa, for 90 s, before the first measurement and between each measurement, to expel air bubbles (vessel embolism) and to saturate vessels with water. Hydraulic conductance was then measured twice for each segment under low pressure, 0.006 MPa, with degassed and deionized water for 80 s. Based on preliminary studies showing an increase and then a decrease of  $C$  across consecutive measurements, the maximal of these two values was considered as the maximal hydraulic conductance of the segment,  $C_{\text{max}}$ . After  $C_{\text{max}}$  measurement, the length and the basal diameter of the segment were measured. The maximal hydraulic conductivity ( $K_{\text{max}}$ ;  $\text{mmol.m.s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ ) was computed as the product of  $C_{\text{max}}$  by the length (m) of the segment (Tyree and Ewers, 1991). Specific maximal hydraulic conductivity ( $K_{\text{smax}}$ ;  $\text{mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ ) was computed by dividing  $K_{\text{max}}$  by the basal csa of the segment ( $\text{m}^2$ ).

### *Axis anatomy*

Just after sampling, the apical part of each GU was immersed in FAA fixative (5% formaldehyde at 38%, 90% ethanol at 50%, 5% glacial acetic acid) (Eltoum *et al.*, 2001), and conserved at 2°C until the last sampling date in March 2015. Histological studies were then performed at the Histology and Plant Cell Imaging Platform (PHIV: <http://phiv.cirad.fr/>) in Montpellier, France.

Ten transversal slices, 50- $\mu\text{m}$  thick, were cut per sample with a vibratome (HM650v microm). They were stained in FASGA solution (3% of Safranin solution at 1%, 21% of Alcian blue solution at 0.5%, 1.5% of acetic acid, 45% of glycerin, 29.5% of distilled water) (Tolivia and Tolivia, 1987) and stored for 12 hours in the dark. This staining highlights the cellulosic areas, i.e., phloem (blue colouration), and the lignified areas, i.e., xylem and sclerenchyma (purple colouration) (Fig. 1). Slices with the best staining were rinsed and placed between a slide and cover glass with a drop of mounting medium (Mounting Medium Isomount ID 257).

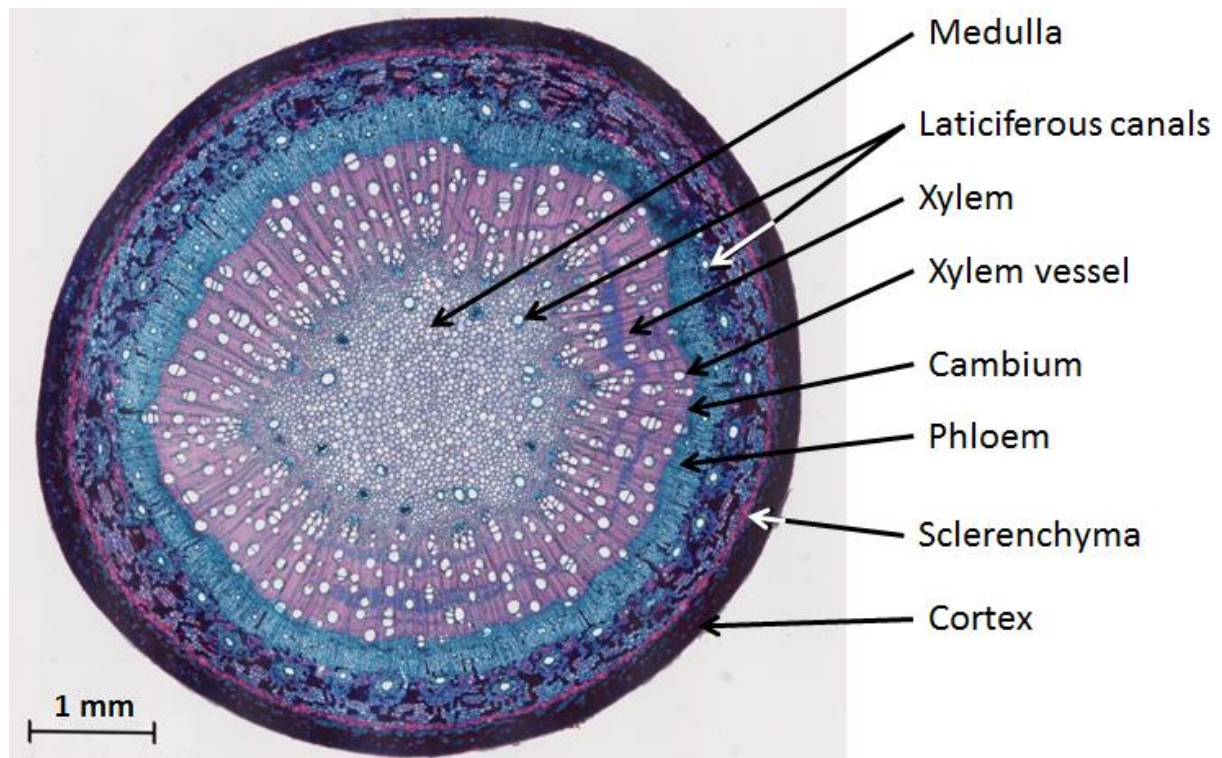


FIGURE. 1. Transverse section of a growth unit of Cogshall mango cultivar stained with FASGA solution. Cellulosic areas are in blue, and lignified areas are in purple.

Slides were scanned at the RIO Imaging Platform in Montpellier (MRI; <https://www.mri.cnrs.fr/>) using a NanoZoomer 2.0 HT slide scanner. Histological pictures were then analysed with a specific programme written under ImageJ free software (<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>). This programme made it possible to differentiate several parts of the GU anatomy based on the colour: medulla, xylem, phloem and sclerenchyma. The areas of the whole GU cross-section, the xylem, the phloem and the sclerenchyma were computed for each slide (Supplementary Fig. 1). On the basis of these data, the percentages of xylem, phloem and sclerenchyma area, respectively, with respect to the GU csa. The programme also identified each xylem vessel (white lumen area) with a lumen area larger than  $150 \mu\text{m}^2$ . This threshold was chosen after calibration tests with different threshold values ( $50$ ,  $100$ ,  $150$  and  $200 \mu\text{m}^2$ ) and was considered as the lowest area of xylem vessel lumen. The programme counted the number of xylem vessels and measured the major and minor diameters for each one, as well as its lumen area. The density of xylem vessels was calculated as the number of xylem vessels divided by the xylem area.

Maximal hydraulic conductivity was measured on the central part of the GU and the histological analyses were performed on the apical part of the same GU. However, the basal csa of the segment used for hydraulic measurements was closely related to the csa of the segment used for histological studies for Cogshall ( $r^2=0.86$ ,  $P<0.001$ ) and José ( $r^2=0.79$ ,  $P<0.001$ ) (data not shown).

Theoretical hydraulic conductivity of each GU ( $K_{th}$ ,  $\text{mmol.m.s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ ) was computed from these histological data, according to the Hagen-Poiseuille law and assuming that xylem vessels behaved as ideal capillaries and that flux was laminar. The cross-section of mango xylem vessels was closer to an ellipse than to a circle and the theoretical hydraulic conductivity for a set of such vessels is then (Tyree and Zimmermann, 2002):

$$K_{th} = \sum_{i=1}^n \frac{\pi}{64\eta} \times \frac{a_i^3 b_i^3}{a_i^2 + b_i^2}$$

where n is the number of xylem vessels of the GU, a and b are the major and minor diameters of each vessel, respectively, and  $\eta$  is the viscosity of the solution in the vessels at 20°C (10<sup>-9</sup>MPa.s) (Lewis and Boose, 1995).

### *Data analysis*

Statistical analyses were performed with R software (R Core Team, 2015). Data were analysed separately for each growing cycle. Analysis of variance followed by Tukey's comparison of means test was used to analyse the effects of three factors, GU fate, sampling date and cultivar, on anatomical traits and GU hydraulics.

The effects of GU fate on the relationships between anatomical traits and hydraulic traits were tested with analysis of covariance where the GU fate was used as a covariate. Vegetative GUs, represented by a low sample number, were removed from these analyses when their own relationship was not significant. If the covariate had no effect on the slope of the relationship, then its effect on the y-intercept was tested. When vegetative GUs were conserved in the analyses, i.e., when the GU fate had three modalities, post-hoc multiple comparisons were performed to determine which GU fate differed from the others when a significant effect was revealed. Three pairwise comparisons between GU fates were computed. For each pairwise comparison, a Bonferroni correction of the P-value threshold was done to take the number of tests into account, and the P-value threshold was  $P = 0.05/3 = 0.016$ .

## RESULTS

This study generated two types of data: absolute data, such as GU csa, xylem area and maximal hydraulic conductivity, and relative data that were absolute data normalized by GU csa, e.g., percentage of xylem area or specific maximal hydraulic conductivity. Relative data made it possible to understand the effects of reproduction and vegetative growth on bearing GUs independently of their csa, whereas absolute data took contrasted GU csa and the associated changes in anatomy and hydraulics into account. Although both types of data were important, we made the choice to primarily discuss results expressed in relative data in order to be succinct. Results expressed in absolute data are presented in the Supplementary Data, and the Discussion section deals with both types of results.

### *Changes in growth unit cross-sectional area*

For both cultivars, the csa of quiescent GUs significantly changed among phenological periods during GC2, but not during GC1 (Fig. 2). These differences did not reflect any particular trend and were probably related to the difficulty to sample GUs with a 5 mm diameter at each sampling date. Statistical tests were also stronger during GC2 where sample size was n=10 (n=5 during GC1). Csa of reproductive GUs showed significant differences among phenological periods, except during GC1 for José. For Cogshall, during both GCs, it increased significantly and regularly between flowering and harvest, and then remained constant up to vegetative growth. During GC1, reproductive GUs had a significantly larger csa than quiescent GUs at harvest and vegetative growth. During GC2, reproductive GUs had a significantly lower csa than quiescent GUs at flowering, and then had higher csa than quiescent GUs from fruit growth onward, with significant differences at fruit growth and

vegetative growth. For José, during GC2, the csa of reproductive GUs significantly increased between flowering and fruit growth, and then decreased at an intermediate level and remained constant at harvest and vegetative growth. Reproductive GUs had higher csa than quiescent GUs from fruit growth onward, with a significant difference at harvest. For both cultivars and cycles, vegetative GUs had a significantly higher csa than quiescent GUs at vegetative growth. For Cogshall, vegetative GUs had csa that were similar to those of reproductive GUs during both cycles. For José, the csa of vegetative GUs was significantly higher than the csa of reproductive GUs during GC1, but not during GC2.

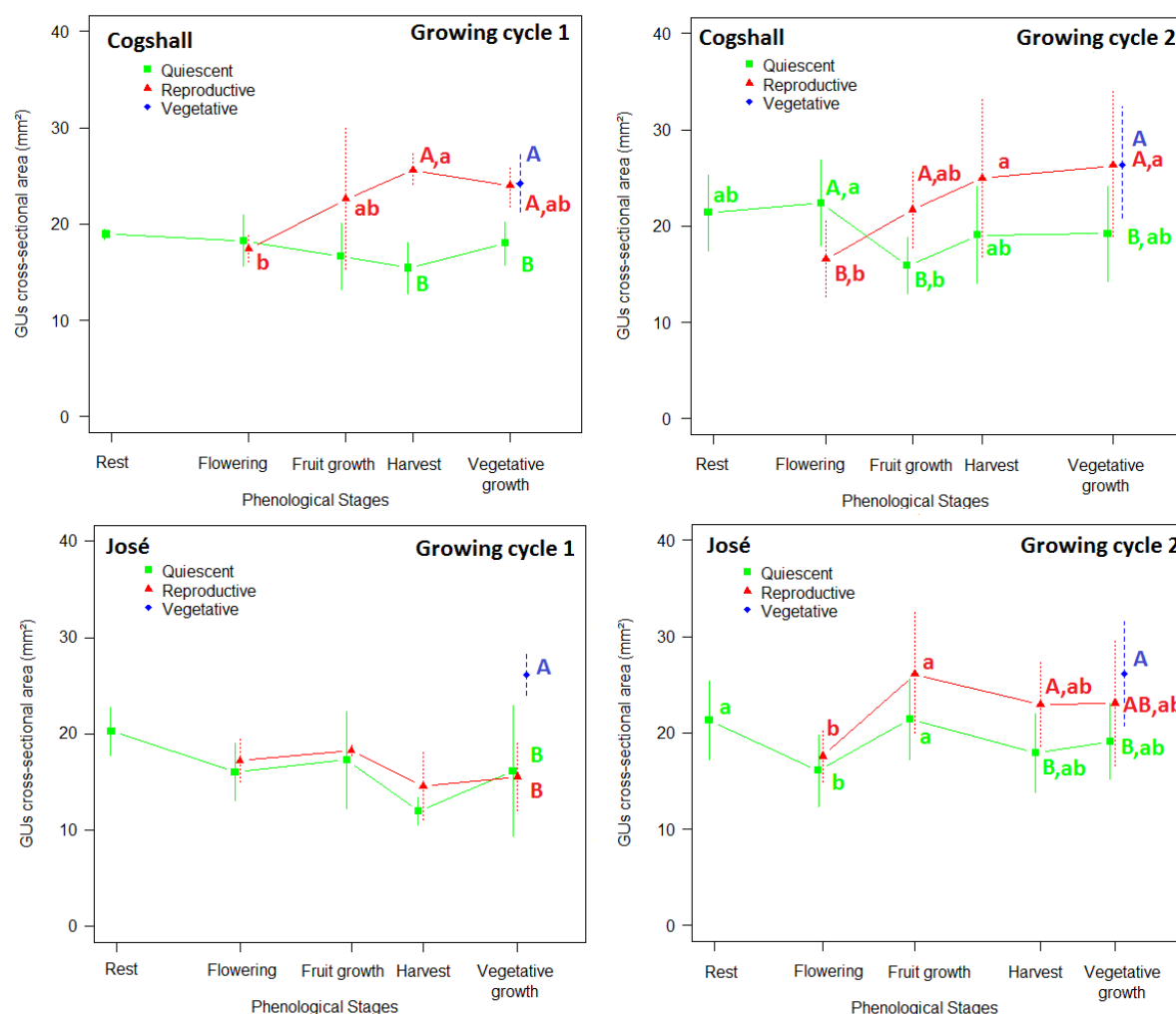


FIGURE. 2. Changes (mean  $\pm$  SD) in cross-sectional area of quiescent, reproductive and vegetative growth units (GUs) across five phenological periods (rest period, flowering, mid fruit growth, harvest, vegetative growth) for two cultivars (Cogshall, José) during two growing cycles. The distance between phenological periods on the x-axis is proportional to the number of days between each sampling date. Sample size is  $n=5$  for growing cycle 1 and  $n=10$  for growing cycle 2. Upper case letters, when present, indicate significantly different means between GU fates for the same phenological period, and lower case letters, when present, indicate significantly different means between phenological periods for the same GU fate (analysis of variance followed by Tukey's test,  $P<0.05$ ).

### *Percentages of xylem, phloem and sclerenchyma area*

When pooling data across fates and sampling dates, the mean percentage of xylem area was significantly higher for Cogshall ( $28.3 \pm 5.2\%$ ) than for José GUs ( $23.4 \pm 6.2\%$ ) ( $P < 0.001$ ) (Fig. 3). The percentage of xylem area of reproductive GUs fluctuated but remained relatively constant from flowering up to vegetative growth for both cultivars. The percentage of xylem area of vegetative GUs was significantly higher than the one of reproductive GUs for both cultivars, and it was significantly higher than the one of quiescent GUs for Cogshall alone.

When pooling data across fates and sampling dates, the mean percentage of phloem area was significantly higher for Cogshall ( $14.1 \pm 3.1\%$ ) than for José GUs ( $10.9 \pm 3.0\%$ ) ( $P < 0.001$ ) (Fig. 3). For both cultivars, the percentage of phloem area of quiescent GUs was similar across phenological periods. There were, in contrast, significant differences in the percentage of phloem area of reproductive GUs among phenological periods. For Cogshall, it strongly and significantly increased between flowering and fruit growth, and then regularly and significantly decreased until vegetative growth. Cogshall reproductive GUs had a significantly higher percentage of phloem area than quiescent GUs at fruit growth, harvest and vegetative growth. For José, the percentage of phloem area of reproductive GUs significantly increased between flowering and fruit growth, and then remained constant up to vegetative growth. José reproductive GUs had a significantly higher percentage of phloem area than quiescent GUs at harvest and vegetative growth. Cogshall vegetative GUs had a percentage of phloem area intermediate between reproductive GUs and quiescent GUs. José vegetative GUs had a significantly lower percentage of phloem area than reproductive GUs, and quiescent GUs had intermediate values.

When pooling data across fates and sampling dates, the mean percentage of sclerenchyma area was significantly higher for José ( $9.0 \pm 2.8\%$ ) than for Cogshall GUs ( $7.1 \pm 2.5\%$ ) ( $P < 0.01$ ) (Fig. 3). For Cogshall, the percentage of sclerenchyma area of quiescent GUs remained more or less constant across the phenological periods, whereas for José, it regularly and significantly increased from rest to fruit growth and then remained constant up to vegetative growth. The percentage of sclerenchyma area of Cogshall reproductive GUs regularly and significantly increased between flowering and vegetative growth, and it was significantly higher from the one of quiescent GUs at vegetative growth. For José reproductive GUs, it significantly increased between flowering and harvest and then decreased, but not significantly, up to vegetative growth. The percentage of sclerenchyma area was significantly lower at flowering in José reproductive GUs. The percentage of sclerenchyma area of vegetative GUs was similar to the one of quiescent GUs for both cultivars. It was significantly lower than the one of reproductive GUs for Cogshall.

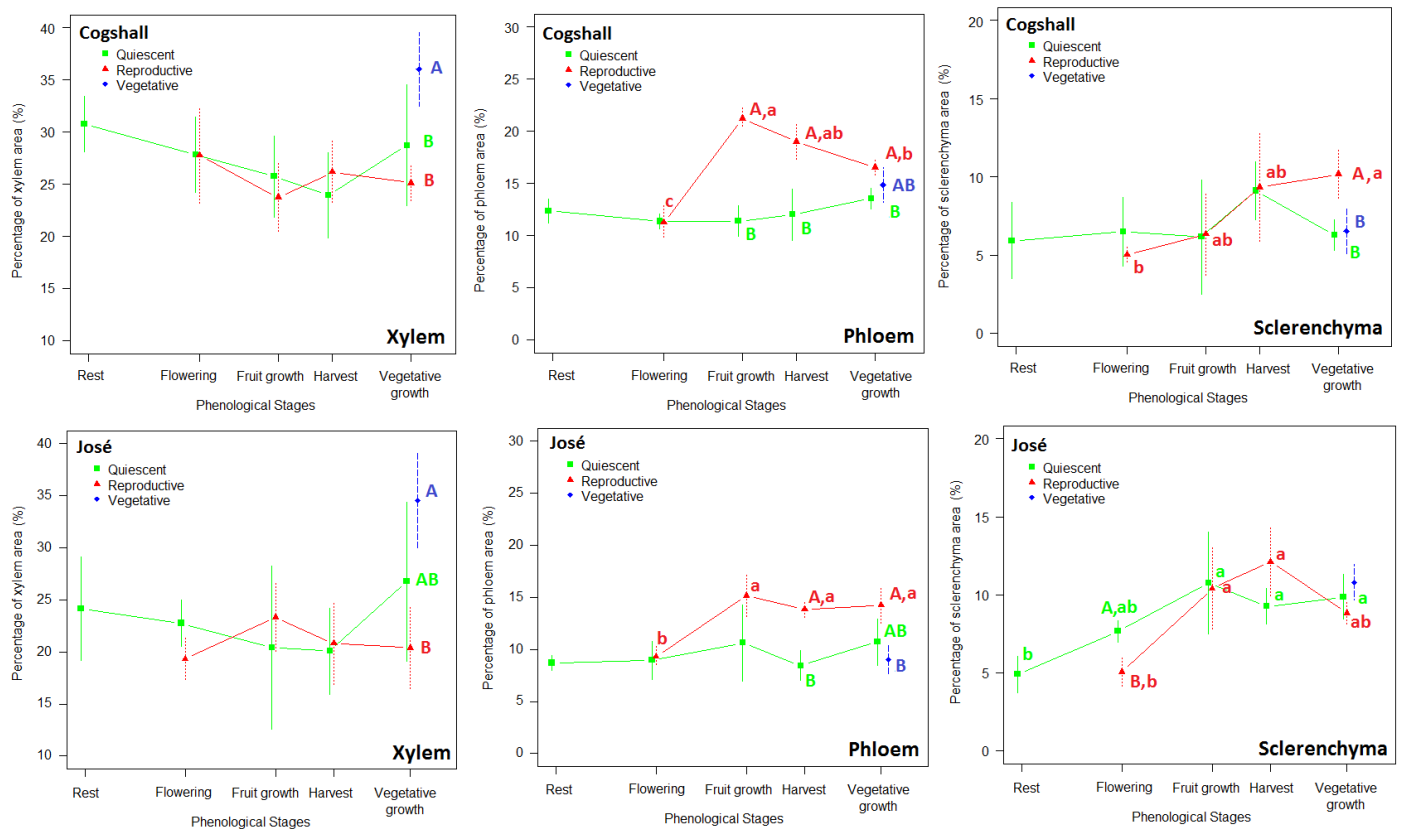


FIGURE. 3. Changes (mean  $\pm$  SD) in percentages of xylem, phloem and sclerenchyma area in the cross-sectional area of quiescent, reproductive and vegetative growth units (GUs) across five phenological periods (rest period, flowering, mid fruit growth, harvest, vegetative growth) for two cultivars (Cogshall, José). The distance between phenological periods on the x-axis is proportional to the number of days between each sampling date. Upper case letters, when present, indicate significantly different means between GU fates for the same phenological period, and lower case letters, when present, indicate significantly different means between phenological periods for a same GU fate (analysis of variance followed by Tukey's test,  $n=5$ ,  $P<0.05$ ).

### *Density and lumen area of xylem vessels*

When pooling data across fates and sampling dates, the density of xylem vessels, referred to hereafter as vessel density, was not significantly different between Cogshall and José ( $P=0.13$ ), with a mean value of  $116.9 \pm 45.3$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ . For Cogshall, no significant difference in vessel density was revealed ( $P=0.28$ ) between quiescent ( $114.6 \pm 33.3$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ) and reproductive GUs ( $127.2 \pm 33.4$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ) when pooling data across sampling dates (Supplementary Fig. 3.A). For José, vessel density was significantly higher ( $P<0.001$ ) in reproductive GUs ( $157.3 \pm 49.0$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ) than in quiescent GUs ( $111.2 \pm 41.2$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ) when pooling data across sampling dates. Significant differences were revealed at flowering and harvest. At vegetative growth, Cogshall reproductive GUs had a significantly higher ( $P<0.001$ ) vessel density ( $110.6 \pm 9.4$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ) than vegetative GUs ( $57.0 \pm 10.2$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ), and quiescent GUs had intermediate values ( $95.5 \pm 50.4$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ). For José, vessel density at vegetative growth was variable between quiescent GUs ( $99.7 \pm 41.2$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ), reproductive GUs ( $157.9 \pm 78.4$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ) and vegetative GUs ( $75.1 \pm 21.1$  vessels. $\text{mm}^{-2}$ ), but the differences were not significant, probably because of the large variability among the reproductive GUs.

When pooling data across fates and sampling dates, the mean area of xylem vessel lumen, referred hereafter as vessel area, was significantly higher for Cogshall ( $1284.1 \pm 310.0 \mu\text{m}^2$ ) than for José ( $879.0 \pm 197.1 \mu\text{m}^2$ ) ( $P < 0.001$ ). No difference in vessel area was revealed between reproductive and quiescent GUs (Supplementary Fig. 3.B). At vegetative growth and for both cultivars, vessel area was higher for vegetative GUs ( $1700.3 \pm 501.9$ , and  $1132.3 \pm 120.9 \mu\text{m}^2$  for Cogshall and José, respectively) than for reproductive ( $1189.6 \pm 143.3$ , and  $875.4 \pm 327.9 \mu\text{m}^2$  for Cogshall and José, respectively) and quiescent GUs ( $1239.4 \pm 289.5$ , and  $889.7 \pm 265.7 \mu\text{m}^2$  for Cogshall and José, respectively) but the differences were not significant, probably because of the large variability among the data.

### *Specific hydraulic conductivity*

When pooling data across fates and sampling dates during each GC,  $K_{s\text{max}}$  was significantly higher for Cogshall ( $38.4 \pm 13.5$  and  $36.3 \pm 14.3 \text{ mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$  during GC1 and GC2, respectively) than for José ( $25.1 \pm 13.6$  and  $22.4 \pm 13.5 \text{ mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$  during GC1 and GC2, respectively) ( $P < 0.001$ ). During both GCs, Cogshall quiescent GUs had significantly higher  $K_{s\text{max}}$  ( $39.5 \pm 10.2$  and  $34.4 \pm 14.4 \text{ mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$  during GC1 and GC2, respectively) than José quiescent GUs ( $18.5 \pm 7.8$  and  $16.9 \pm 9.2 \text{ mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$  during GC1 and GC2, respectively) ( $P < 0.001$ ).  $K_{s\text{max}}$  of reproductive GUs was similar ( $28.5 \pm 11.9 \text{ mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$  on average) for both cultivars during GC1, and it was significantly higher for Cogshall ( $36.9 \pm 11.7 \text{ mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ ) than for José ( $23.3 \pm 11.4 \text{ mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ ) during GC2 ( $P < 0.001$ ).  $K_{s\text{max}}$  of vegetative GUs was similar ( $50.8 \pm 12.1$  and  $42.4 \pm 17.2 \text{ mol.m}^{-1}.\text{s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$  on average during GC1 and GC2, respectively) for both cultivars during both GCs.

For both cultivars,  $K_{s\text{max}}$  of quiescent GUs showed significant differences among phenological periods (Fig. 4). During GC1, it regularly and significantly decreased between rest and fruit growth, and then increased up to vegetative growth for both cultivars. During GC2, it decreased between rest and flowering, and then remained nearly constant up to vegetative growth. For reproductive GUs, different patterns were observed between Cogshall and José.  $K_{s\text{max}}$  of Cogshall reproductive GUs decreased irregularly between flowering and vegetative growth, not significantly during GC1, and significantly during GC2.  $K_{s\text{max}}$  of reproductive GUs was significantly higher than  $K_{s\text{max}}$  of quiescent GUs at fruit growth during GC2. In contrast,  $K_{s\text{max}}$  of José reproductive GUs increased irregularly but not significantly from flowering up to vegetative growth during both GCs. In general, José reproductive GUs had higher  $K_{s\text{max}}$  than quiescent GUs, with significant differences at fruit growth during GC1, and at flowering and fruit growth during GC2. At vegetative growth, vegetative GUs had significantly higher  $K_{s\text{max}}$  than reproductive GUs for Cogshall during GC1, and had significantly higher  $K_{s\text{max}}$  than quiescent and reproductive GUs for José during GC2.

Changes in  $K_{\text{max}}$  were similar to changes in  $K_{s\text{max}}$  (Supplementary Fig. 4), where the first variable was more variable than the latter. However, vegetative GUs had significantly higher  $K_{\text{max}}$  than quiescent and reproductive GUs for both cultivars and during both GCs, except for Cogshall during GC2 where the  $K_{\text{max}}$  of reproductive GUs had intermediate values.



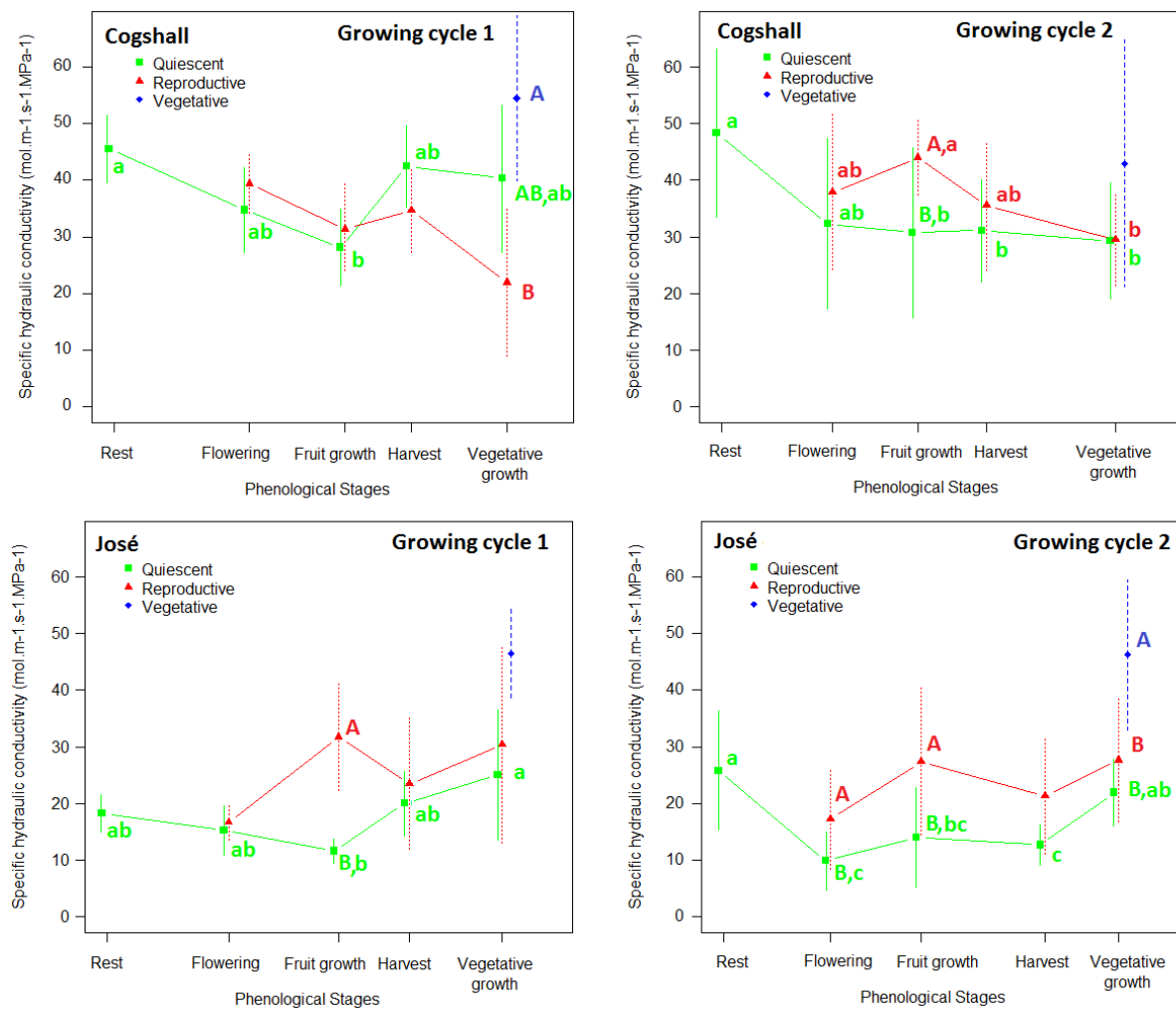


FIGURE. 4. Changes (mean  $\pm$  SD) in specific maximal hydraulic conductivity ( $K_{s_{max}}$ ) of quiescent, reproductive and vegetative growth units (GUs) across five phenological periods (rest period, flowering, mid fruit growth, harvest, vegetative growth) for two cultivars (Cogshall, José) and during two growing cycles. The distance between phenological periods on the x-axis is proportional to the number of days between each sampling date. Sample size is  $n=5$  for growing cycle 1 and  $n=10$  for growing cycle 2. Upper case letters, when present, indicate significantly different means between GU fates for the same phenological period, and lower case letters, when present, indicate significantly different means between phenological periods for a same GU fate (analysis of variance followed by Tukey's test,  $P<0.05$ ).

### Comparison between $K_{max}$ and $K_{th}$

When pooling data across fates and sampling dates,  $K_{th}$  was significantly higher for Cogshall ( $3.4 \pm 1.3 \text{ mmol.m.s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ ) than for José ( $1.5 \pm 0.9 \text{ mmol.m.s}^{-1}.\text{MPa}^{-1}$ ) ( $P<0.001$ ).

The relationship between  $K_{th}$  and  $K_{max}$  was linear, significant ( $P=0.02$ ) but weak ( $r^2=0.10$ ) for Cogshall, and was linear, significant ( $P<0.001$ ) without y-intercept and well fitted ( $r^2=0.67$ ) for José (Fig. 5). For Cogshall, GU fate did not affect the slope ( $P=0.30$ ) or the y-intercept ( $P=0.24$ ) of the relationship. For José, GU fate did not affect the slope of the relationship ( $P=0.06$ ) but it affected the y-intercept ( $P=0.02$ ). The y-intercept was higher for reproductive GUs (0.13) than for quiescent GUs (0.007, not significantly different from 0).



The mean ratio  $K_{\max}/K_{\text{th}}$  was significantly higher for José ( $0.34 \pm 0.14$ ) than for Cogshall ( $0.26 \pm 0.16$ ) ( $P=0.02$ ), indicating that  $K_{\max}$  was on average 34% and 26% of  $K_{\text{th}}$  for José and Cogshall, respectively. For Cogshall, this value was higher than the slope of the relationship between  $K_{\text{th}}$  and  $K_{\max}$  (0.11) because the y-intercept of the relationship was significantly higher than zero. The mean ratio  $K_{\max}/K_{\text{th}}$  was significantly higher ( $P=0.01$ ) for vegetative GUs ( $0.44 \pm 0.23$  a) than for reproductive GUs ( $0.20 \pm 0.10$  b), with intermediate values for quiescent GUs ( $0.27 \pm 0.15$  ab). For José, the mean ratio  $K_{\max}/K_{\text{th}}$  was close to the slope of the relationship (0.32) since the y-intercept was not significantly different from zero. Contrary to Cogshall, it was not affected by the GU fate ( $P=0.30$ )

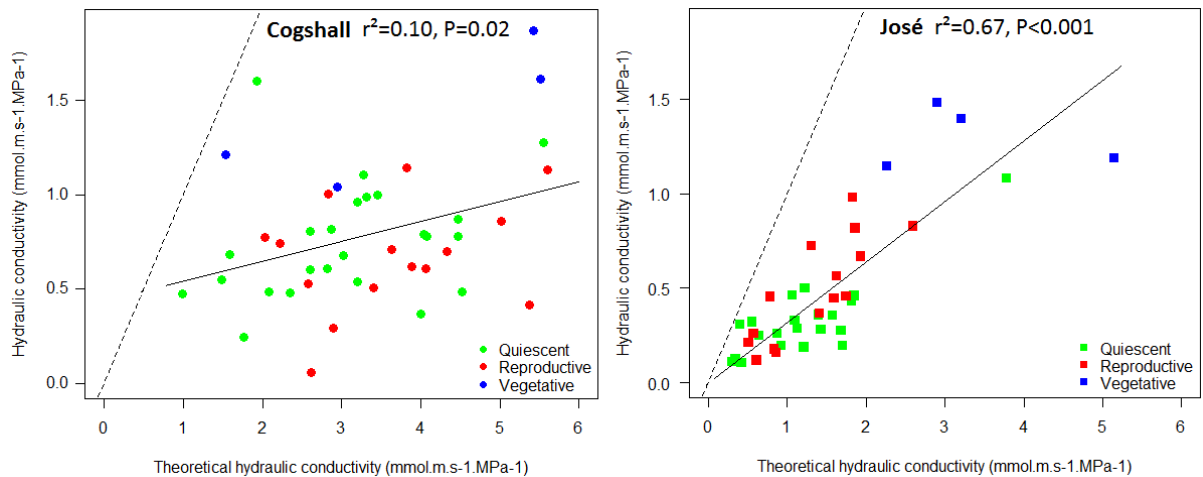


FIGURE. 5. Relationships between theoretical hydraulic conductivity ( $K_{\text{th}}$ ) and maximal hydraulic conductivity ( $K_{\max}$ ) for quiescent, reproductive and vegetative growth units, and for two cultivars (Cogshall, José). The coefficient of determination ( $r^2$ ) and the associated P-value of linear adjustments are given on the figure. The solid line represents the regression line and the dotted line represents  $y=x$  on each graph.

### *Relationships between $K_{\max}$ , xylem traits and GU csa*

A first analysis of the linear correlations between  $K_{\max}$ , GU csa, vessel density and area for each cultivar showed that all correlations were significant but generally low ( $0.28 < |r| < 0.83$ ) for Cogshall, and stronger for José ( $0.51 < |r| < 0.92$ ). In a second step, the effects of GU fate on the linear adjustments with the best correlations ( $r > 0.71$ ) were investigated.

For Cogshall, the only relationship considered was between GU csa and xylem area ( $r^2 = 0.68$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 6A). GU fate did not affect the slope of the relationship ( $P=0.06$ ), but it affected the y-intercept ( $P < 0.001$ ). The y-intercept was high for vegetative GUs (0.61 a), low for reproductive GUs (-1.89 c), and intermediate for quiescent GUs (-1.09 b).

For José, three relationships were considered, between GU csa and xylem area ( $r^2 = 0.85$ ,  $P < 0.001$ , Fig. 6B), between xylem area and  $K_{\max}$  ( $r^2 = 0.67$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 6C) and between vessel area and density ( $r^2 = 0.57$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 6D). GU fate (quiescent vs. reproductive) affected the slope of the relationship between GU csa and xylem area ( $P=0.03$ ), and between xylem area and  $K_{\max}$  ( $P=0.007$ ). For the first relationship, quiescent GUs showed a higher slope than reproductive GUs (Fig. 6B). For the second relationship, reproductive GUs showed a higher slope than quiescent GUs (Fig. 6C). The relationship between vessel area and density was negative. GU fate did not affect the slope ( $P=0.31$ ), but it affected the y-intercept

( $P < 0.001$ ). The y-intercept was higher for reproductive GUs (315.4 a) than for quiescent GUs (275.1 b) (Fig. 6D).

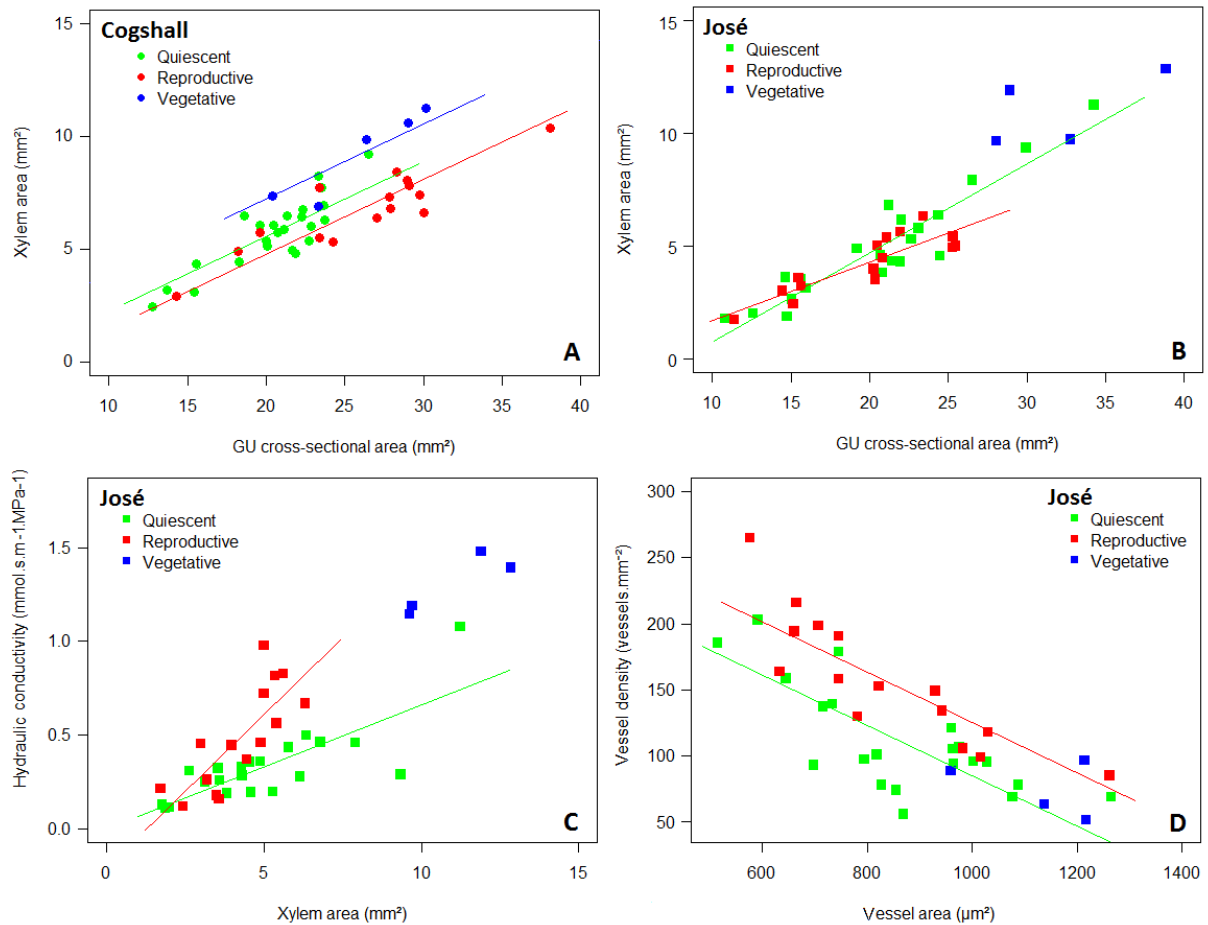


FIGURE. 6. Relationships between growth unit (GU) cross-sectional area and xylem area for Cogshall (A) and José (B), between xylem area and maximal hydraulic conductivity ( $K_{max}$ ) for José (C), and between vessel area and vessel density for José (D), for quiescent, reproductive and vegetative GUs. The solid lines represent the regression lines for significant relationships ( $P < 0.05$ ). Vegetative GUs are considered for regression on Graph A only.

## DISCUSSION

The aim of this study was to investigate the respective effects of reproductive and vegetative growth on the anatomy of conducting and supporting tissues, and on the hydraulic conductivity of bearing axes of two mango cultivars, Cogshall and José. We hypothesized that reproduction would increase the xylem and phloem area in the bearing axis in order to supply growing fruits with water and carbohydrates, and the sclerenchyma area in order to mechanically support fruit mass. Vegetative growth would increase the xylem and sclerenchyma area in order to supply water to the new leaves and to sustain the whole structure. We also expected that the development of xylem would increase the maximal hydraulic conductivity of the bearing axis.

TABLE 2. Summary of the effects of fruit growth (reproductive GUs) and vegetative growth (vegetative GUs), compared to quiescent GUs, on specific maximal hydraulic conductivity

( $K_{s_{max}}$ ), maximal hydraulic conductivity ( $K_{max}$ ), morphological and anatomical traits of terminal growth units of two mango cultivars (Cogshall, José). Symbols '+' or '-' represent a significant increase or decrease of the trait in reproductive GUs compared to quiescent GUs at fruit growth, harvest or vegetative growth, or in vegetative GUs compared to quiescent GUs at vegetative growth. Symbols '+ (ns)' or '- (ns)' represent a non-significant increase or decrease. 'ns' indicates no difference between reproductive or vegetative GUs and quiescent GUs.

Trait		Cogshall		José	
		Reproductive GUs	Vegetative GUs	Reproductive GUs	Vegetative GUs
Growth unit cross-sectional area		+	+	+ (ns)	+
$K_{s_{max}}$		+ (ns)	+ (ns)	+	+ (ns)
$K_{max}$		+ (ns)	+	+	+
Percentages of tissue area	Xylem	ns	+	ns	+ (ns)
	Phloem	+	ns	+	ns
	Sclerenchyma	+	ns	ns	ns
Tissue area	Xylem	+	+	ns	+ (ns)
	Phloem	+	ns	+	ns
	Sclerenchyma	+	ns	ns	+
Xylem vessels	Density	ns	- (ns)	+	- (ns)
	Area	ns	+ (ns)	ns	+ (ns)

### *Effects of reproduction on csa, anatomy and hydraulic conductivity of the bearing axis*

Our results made it possible to draw conclusions about the changes in the csa of reproductive GUs, anatomy and hydraulic conductivity compared to quiescent GUs, and to highlight the differences between the two cultivars (Table 2). For Cogshall, reproduction increased phloem, xylem and sclerenchyma area, leading to an increase of GU csa. The percentage of xylem area in the GU csa was not affected by reproduction, while the percentage of sclerenchyma, and especially phloem, increased from flowering to harvest and vegetative growth. This indicated a more than proportional increase of sclerenchyma and phloem area in the reproductive GUs and, therefore, a large development of these tissues, particularly phloem, which was about three times greater in reproductive than in quiescent GUs at harvest (Supplementary Fig. 2). Conversely, the increase in xylem area was proportional to the increase in GU csa. During fruit growth,  $K_{s_{max}}$  regularly decreased, but  $K_{max}$  regularly increased, in relation to the increase in GU csa. Both  $K_{s_{max}}$  and  $K_{max}$  dramatically dropped after harvest during GC1. For José, reproduction only increased the phloem area, leading to a non-regular increase of GU csa between the two GCs. The percentage of phloem area doubled during fruit growth, leading to an increase in total phloem area, but less than in Cogshall. Despite the lack of increase of the percentage of xylem area, the  $K_{s_{max}}$  of José reproductive GUs increased during fruit growth, suggesting a better efficiency of xylem in these GUs.

As explained in the Materials and Methods section, the sampling procedure tended to minimize the diameter of sampled reproductive GUs, and the actual differences in GU csa

between reproductive and quiescent GUs were probably larger than observed. The increase of csa in reproductive GUs suggested that reproduction induced secondary growth, i.e., the thickening of the axis (Lauri *et al.*, 2010), particularly for Cogshall GUs. This secondary growth was related to fruit growth and not to flowering since the csa of reproductive GUs was similar to or lower than the csa of quiescent GUs at flowering (Fig. 2). However, axis secondary growth can occur with the development of the inflorescence, for example, in *Arabidopsis thaliana* (Ko *et al.*, 2004).

Secondary growth of reproductive GUs was related to an increase in phloem area in percentage (Fig. 3) and in absolute value (Supplementary Fig. 2) for both cultivars. In general, the cambium in woody stems is bidirectional. It produces secondary phloem externally and secondary xylem internally in the same proportions (Larson, 1994; Spicer and Groover, 2010). However, significant temporal or spatial variation of cambium functioning exists among species, leading to differential production of xylem and phloem. For example, phloem can differentiate before xylem (Esau and Cheadle, 1969; Carlquist, 2007), or more frequent division can occur on the xylem side (Esau and Cheadle, 1955). Local modification of cambium (Pace *et al.*, 2009) can also lead to different patterns of cambium functioning. We hypothesized that fruit growth led to an increase in xylem in order to improve hydraulic conductivity of bearing axes and to better supply fruits with water. However, contrary to our expectations, our results showed that the cambium of mango GUs preferentially produced phloem and very little or no xylem during fruit growth. Despite the stability of the percentage of xylem area,  $K_{\max}$  was generally higher in reproductive GUs in relation to the higher csa of GUs in Cogshall and the higher vessel density in José, whereas hydraulic efficiency was low, particularly in Cogshall (Fig. 5). These results suggested that water was mainly supplied to growing mangoes by phloem. Phloem plays a crucial role in the efficient long-distance transport of carbohydrates and water (Lough and Lucas, 2006), particularly to the growing fruits. Water fluxes brought by the phloem increase during fruit growth (Lang (1990) in apple; Morandi *et al.* (2010) in kiwifruit; Brüggewirth *et al.* (2016) in sweet cherry) and they become the major water flux at fruit maturity (Drazeta *et al.* (2004) in apple). This is concomitant with a decrease of water import through xylem during fruit growth (Liu *et al.* (2007) in tomato; Nordey *et al.* (2015) in mango).

A dramatic drop in both  $K_{\max}$  and  $K_{s\max}$  of Cogshall reproductive GUs was observed after harvest during GC1. However, the percentage of xylem area, vessel area and density of GUs sampled at this date could not explain this decrease. A decrease of xylem influx with fruit development has been reported in several species such as apple (Lang, 1990; Drazeta *et al.*, 2004), kiwifruit (Dichio *et al.*, 2003; Morandi *et al.*, 2010; Mazzeo *et al.*, 2013), grape (Greenspan *et al.*, 1994) and tomato (Ho *et al.*, 1987). Three mechanisms are put forward to explain this decrease. The first mechanism is embolism that has been observed in the mango pedicel (Nordey *et al.*, 2015). The second mechanism is a xylem failure in the growing fruits, leading to reduction of xylem influx in the fruit (Lang and Düring, 1991; Lang and Ryan, 1994; Drazeta *et al.*, 2004). However, the observed decrease was related to  $K_{\max}$  measured on bearing axes where possible air bubbles were flushed before measurements were made. The causes of this decrease were then structural. The third mechanism is xylem vessel occlusion by calcium particles (Brlansky *et al.*, 1984; Rogiers *et al.*, 2001) or polysaccharides (pectins and callose) (Neghliz *et al.*, 2016). Xylem occlusion can also occur with bacteria or fungi (Tyree and Zimmermann, 2002). Systemic fungi (Yamato and Iwasaki, 2002) or bacteria such as *Xylella* (Singh *et al.*, 2010) can be deadly, whereas others can live in symbiosis with the plant (Fisher and Petrini, 1990). In mango, several systemic fungi of the genera *Diplodia* and *Fusicoccum* are responsible for the stem-end-rot fruit disease (Johnson *et al.*, 1991, 1992; Ni *et al.*, 2012). These fungi move to the fruit through the xylem during fruit growth (Prusky *et al.*, 2009). Field observations over several years suggest that Cogshall is susceptible to stem-

end-rot disease, whereas José is not (personal observation). The  $K_{s_{max}}$  and  $K_{max}$  decrease after harvest in Cogshall reproductive GUs might be related to xylem occlusion by fungi, particles or polysaccharides. Microbiological and specific histological analyses would be necessary to test this hypothesis. Vessel occlusion in Cogshall would have a noticeable impact on hydraulic conductivity because we have shown that this cultivar has large vessels compared to José (Supplementary Fig. 3B). This could explain the lowest hydraulic efficiency of reproductive GUs for this cultivar and the large variability in the  $K_{max} \sim K_{th}$  relationship, in relation to the number of vessels affected by occlusion in each GU.

Sclerenchyma, collenchyma and parenchyma play a role in mechanical support in plants (Hülkamp and Schnittger, 2001). To the best of our knowledge, no previous research has focused on the effect of reproduction on the sclerenchyma of a bearing axis. We hypothesized that sclerenchyma tissue increased in the bearing axis in order to improve stem strength and avoid breakage. Fruit mass supported by a GU can be considerable (533 g on average for Cogshall and 462 g for José) (Capelli *et al.*, 2016) and is located in the distal part of the axis. They consequently require a strong support, particularly in windy conditions (Gardiner *et al.*, 2016). The two cultivars behaved differently. In Cogshall, sclerenchyma increased during fruit growth, confirming our hypothesis, and xylem that developed during secondary growth probably contributed to the support function of the axis. In José, sclerenchyma and xylem did not increase during fruit growth. The denser wood of this cultivar (Normand *et al.*, 2008) was probably sufficient to support fruit mass.

### *Effects of vegetative growth on csa, anatomy and hydraulic conductivity of the bearing axis*

Contrary to reproduction, the effects of vegetative growth on the bearing axis anatomy and hydraulics were rather similar for Cogshall and José (Table 2). Vegetative growth increased xylem area, which was about two times larger in vegetative than in quiescent GUs, leading to an increase of GU csa. For the same reasons as for reproductive GUs, the actual differences in GU csa between vegetative and quiescent GUs were probably larger than observed. The percentage of xylem area was also higher in vegetative than in quiescent GUs, indicating a more than proportional increase of xylem area compared to the increase in GU csa. Conversely, the percentages of phloem and sclerenchyma area were not affected by vegetative growth. Despite the increase of GU csa, the areas of these tissues were similar in vegetative and quiescent GUs, except for sclerenchyma in José, which was significantly higher in vegetative GUs.

For both cultivars, the growth of a GU led to a csa increase in the bearing GU, corresponding to secondary growth (Kozlowski, 1964) related to the development of xylem. This suggested a differential functioning of cambium that produced more xylem than phloem, which is the opposite of what is observed in reproductive GUs. Cambium functioning then appeared to be dependent on the type of organ developing in the distal position of the bearing axis: production of phloem with fruit growth, and production of xylem with vegetative growth.

Xylem that appeared during vegetative growth had specific traits that were similar for the two cultivars: vessel density was lower and vessel area was higher than in quiescent and reproductive GUs. It was not possible to distinguish initial and newly developed xylem in the histological sections. Consequently, vessel density and vessel area were averaged in the whole xylem area in vegetative GUs, indicating that the actual differences in vessel density and in vessel area between initial and newly developed xylem were larger than the ones observed between quiescent and vegetative GUs (Supplementary Fig. 3).

The lower vessel density and the larger vessel area in vegetative GUs seemed to balance each other out for Cogshall because the  $K_{th}$  of these GUs was in the range of the quiescent and reproductive GUs (Fig. 5). However,  $K_{max}$  was higher in vegetative GUs than in the reproductive GUs for a given  $K_{th}$ , suggesting that the vessels of newly developed xylem were more efficient than those of the xylem present in the reproductive GUs. In contrast, this balance did not occur in José for which  $K_{th}$  and  $K_{max}$  of vegetative GUs were higher than in quiescent and reproductive GUs (Fig. 5), with a similar mean  $K_{max}/K_{th}$  ratio. The different behaviour between the two cultivars was probably related to the larger decrease in vessel density between quiescent and vegetative GUs for Cogshall (-40.3%) than for José (-24.7%).  $K_{max}$  and  $K_{smax}$  of vegetative GUs were higher than in quiescent GUs for both cultivars (Fig. 4 and Supplementary Fig. 4), in coherence with the pipe model theory (Shinozaki *et al.*, 1964a), which predicts an increase in the conducting tissue and hydraulic capacity in relation to the increase of leaf area borne by the axis.

The phloem area in vegetative GUs did not increase like in reproductive GUs. While fruit growth lasts about four months in mango (Léchaudel *et al.*, 2005) and is strongly heterotrophic, the growth of a new GU for complete stem and leaf extension lasts only 8 to 12 days (Dambreville *et al.*, 2013b), and the leaves rapidly become autotrophic. Consequently, vegetative growth does not require a long and intense carbohydrate supply as does fruit growth, which could explain this marked difference in phloem growth between vegetative and reproductive GUs in the two cultivars.

The percentage of sclerenchyma area was similar in vegetative and in quiescent GUs for both cultivars. This lack of development of sclerenchyma in vegetative GUs could be explained in two complementary ways. First, the mass of a young GU is low compared to fruit mass, although the impact of wind on leaf area can entail substantial forces (Gardiner *et al.*, 2016). Second, the role of support is no longer ensured by sclerenchyma in plants with secondary growth, but by conducting tissues and, in particular, secondary xylem, which contains lignified cells (Tyree and Ewers, 1991; Kramer and Boyer, 1995; Baas *et al.*, 2004; Myburg *et al.*, 2013). The considerable xylem development in mango vegetative GUs probably played a role in the support function of the axis.

### *Differences in hydraulic conductivity between cultivars in relation to GU traits*

$K_{max}$  and  $K_{smax}$  were significantly higher for Cogshall than for José (Fig. 4 and Supplementary Fig. 4), confirming previous results (Normand *et al.*, 2008). Our results on histology made it possible to understand the reasons for this difference. Vessel density was similar for both cultivars but the percentage of xylem area was an average of 21.7% larger in Cogshall GUs than in José GUs (Fig. 3). Moreover and more importantly, vessel area was an average of 44.4% higher in Cogshall than in José. These larger vessels with a similar vessel density allowed a larger maximal conductivity (Tyree and Zimmermann, 2002). This pronounced difference in vessel area between the two cultivars suggested that José xylem was more resistant to embolism (safety strategy with small vessels) than Cogshall (efficiency strategy with large vessels) (Bass *et al.*, 2004; Sperry *et al.*, 2008; Gleason *et al.*, 2016). Field observations showed that Cogshall is more susceptible to water stress than José (F. Normand, CIRAD, Reunion Island; 'pers. comm.').

$K_{max}$  was linearly related to  $K_{th}$ , particularly for José GUs (Fig. 5). Some studies have shown similar relationships in *Arabidopsis thaliana* (Tixier *et al.*, 2013) and in leaf sections of *Festuca arundinacea* (Martre *et al.*, 2000). As revealed in this study for two mango cultivars,  $K_{max}$  is generally lower than  $K_{th}$  (Chiu and Ewers, 1993; Lancashire and Ennos, 2002; Tyree and Zimmermann 2002; Loepfe *et al.*, 2007). The  $K_{max}/K_{th}$  ratio represents the relative efficiency of xylem. It corresponds to the slope of the relationship between  $K_{th}$  and  $K_{max}$ , expressed in percentage (Zimmermann, 1978), when the intercept is not significantly

different from zero. The relative efficiency of xylem has been reported to vary between 20 and 100% (Tyree and Zimmermann, 1971; Ewers *et al.*, 1990), with most of the studied species at around 40% (Zimmermann, 1971; Petty, 1978; Martre *et al.*, 2000; Tyree and Zimmermann, 2002; Tixier *et al.*, 2013). At one extreme of this continuum, the relative efficiency of the xylem of vines is almost 100% because their vessels are wider than in closely related trees, maximizing the conducting function of the stem (Tyree and Ewers, 1971). The relative efficiencies of xylem of the two mango cultivars were low, 26% and 34% for Cogshall and José, respectively, and particularly for Cogshall.

Xylem area was closely related to GU area for both cultivars (Figs. 6.A and 6.B). For Cogshall, our results showed that for a given GU csa, xylem area was larger in vegetative GUs than in quiescent and reproductive GUs, confirming the development of xylem in vegetative GUs. GU fates affected the slope of the relationship for José, indicating that for a given increase of GU csa, xylem area increased more rapidly in quiescent GUs than in reproductive GUs. This was probably related to the differential functioning of cambium in reproductive GUs, which produced more phloem than xylem compared to the quiescent GUs where the percentage of xylem and phloem remained constant during the study. Contrary to Cogshall for which only weak relationships were revealed between hydraulic and GU traits, two strong relationships were shown for José.  $K_{\max}$  and xylem area were linearly related in José GUs (Fig. 6.C). For a given increase in xylem area, the  $K_{\max}$  of reproductive GUs increased twice as much as the  $K_{\max}$  of quiescent GUs, suggesting a better hydraulic efficiency of the xylem in reproductive GUs than in quiescent GUs. The second strong relationship revealed the cause of this better efficiency. Vessel density and vessel area were closely and negatively related in José GUs (Fig. 6.D). This negative relationship has been shown in several other species (Preston *et al.*, 2006; Sperry *et al.*, 2008; Fan *et al.* 2009; Poorter *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 2013) and illustrates a trade-off between the hydraulic and mechanical stability of xylem (Wagner *et al.*, 1998; Sellin *et al.*, 2008) in order to optimize the wood structure for different functional demands such as mechanical support and water transport. The interesting result was that over the whole range of vessel area, vessel density was systematically higher in reproductive GUs than in quiescent GUs (Supplementary Fig. 3). Since xylem area did not increase in José GUs during the histological study (GC1), vessel density was already contrasted before flowering between the future reproductive and the future quiescent GUs. This suggested that flowering and fruiting were more likely to occur on GUs with a high vessel density, which would ensure a better water supply to the inflorescence and then to the fruits. The potential for water supply to the growing fruits was thus pre-existing before flowering. The higher but not always significant  $K_{\max}$  in José reproductive GUs (Supplementary Fig. 4) was related to this higher vessel density. There was no difference in vessel density between Cogshall reproductive and quiescent GUs. For this cultivar, the potential for water supply to the growing fruits was related to the increase in xylem area as of flowering (Supplementary Fig. 2). However, for both cultivars, our results strongly suggested that phloem was the main tissue supplying growing fruits with water.

## Conclusion

This original study showed that reproduction and vegetative growth differently affected the cross-sectional area, the anatomy and the hydraulic conductivity of the bearing GU. These effects were related to cambium functioning, which mainly produced phloem during fruit growth and xylem during vegetative growth, leading to a GU csa increase in both reproductive and vegetative GUs compared to quiescent GUs. Reproduction, and especially fruit growth, also increased sclerenchyma in Cogshall reproductive GUs compared to quiescent and vegetative GUs. Maximal hydraulic conductivity increased during fruit growth, and particularly during vegetative growth. However, the relative efficiency of xylem was low

for both cultivars. These general trends were contrasted by a pronounced genotype effect. Specific behaviour to improve water supply to growing fruits through the xylem in reproductive GUs was revealed: large xylem vessels developed at the beginning of fruit growth for Cogshall, and a high density of small xylem vessels developed before flowering for José. These results suggest some hypotheses that deserve to be tested in the future.

## ACKNOWLEDGMENTS

We thank Marc Lartaud, Christine Sanier and Jean-Luc Verdeil from the PHIV Platform for their valued guidance for histological analyses, and Doralice Jessu for her help with hydraulic measurements. This work was funded by the European Union (FEDER fund), the Conseil Régional de la Réunion and the CIRAD.

## LITTERATURE CITED

- Baas P, Ewers FW, Davis SD, Wheeler EA. 2004.** Evolution of xylem physiology. In: Hemsley AR, Poole I, eds. *The Evolution of Plant Physiology*. Academic Press, New York, 273-295.
- Barthélémy D, Caraglio Y. 2007.** Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany* **99**: 375-407.
- Brlansky RH, Timmer LW, Lee RF, Graham JH. 1984.** Relationship of xylem plugging to reduced water uptake and symptom development in citrus trees with blight and blightlike declines. *The American Phytopathological Society* **74**: 1325-1328.
- Brüggenwirth M, Winkler A, Knoche M. 2016.** Xylem, phloem, and transpiration flows in developing sweet cherry fruit. *Trees* **30**: 1821-1830.
- Campbell RJ. 1992.** *Guide to Mangos in Florida*. Miami, FL: Fairchild Botanical Garden.
- Capelli M, Lauri P-É, Normand F. 2016.** Deciphering the Costs of Reproduction in Mango – Vegetative Growth Matters. *Frontiers in Plant Science* **7**: 1531.
- Carlquist S. 2007.** Successive cambia revisited: ontogeny, histology, diversity, and functional significance. *The Journal of the Torrey Botanical Society* **134**: 301-332.
- Chiu S-T, Ewers FW. 1993.** The effect of segment length on conductance measurements in *Lonicera fragrantissima*. *Journal of Experimental Botany* **44**: 175-181.
- Cochard H, Granier A. 1999.** Fonctionnement hydraulique des arbres forestiers. *Revue forestière française* **51**: 120-134.
- Dambreville A, Lauri P-É, Trottier C, Guédon Y, Normand F. 2013a.** Deciphering structural and temporal interplays during the architectural development of mango trees. *Journal of Experimental Botany* **64**: 2467-2480.
- Dambreville A, Normand F, Lauri P-É. 2013b.** Plant growth co-ordination *in natura*: a unique temperature-controlled law among vegetative and reproductive organs in mango. *Functional Plant Biology* **40**: 280-291.
- Dambreville A, Lauri P-É, Normand F, Guédon Y. 2015.** Analysing growth and development of plants jointly using developmental growth stages. *Annals of Botany* **115**: 93-105.
- Damour G. 2008.** *Bases théoriques et approches expérimentales de la modélisation des effets de la contrainte hydrique sur les échanges gazeux foliaires du manguier et du litchi*. PhD Thesis, University of Réunion Island, France.



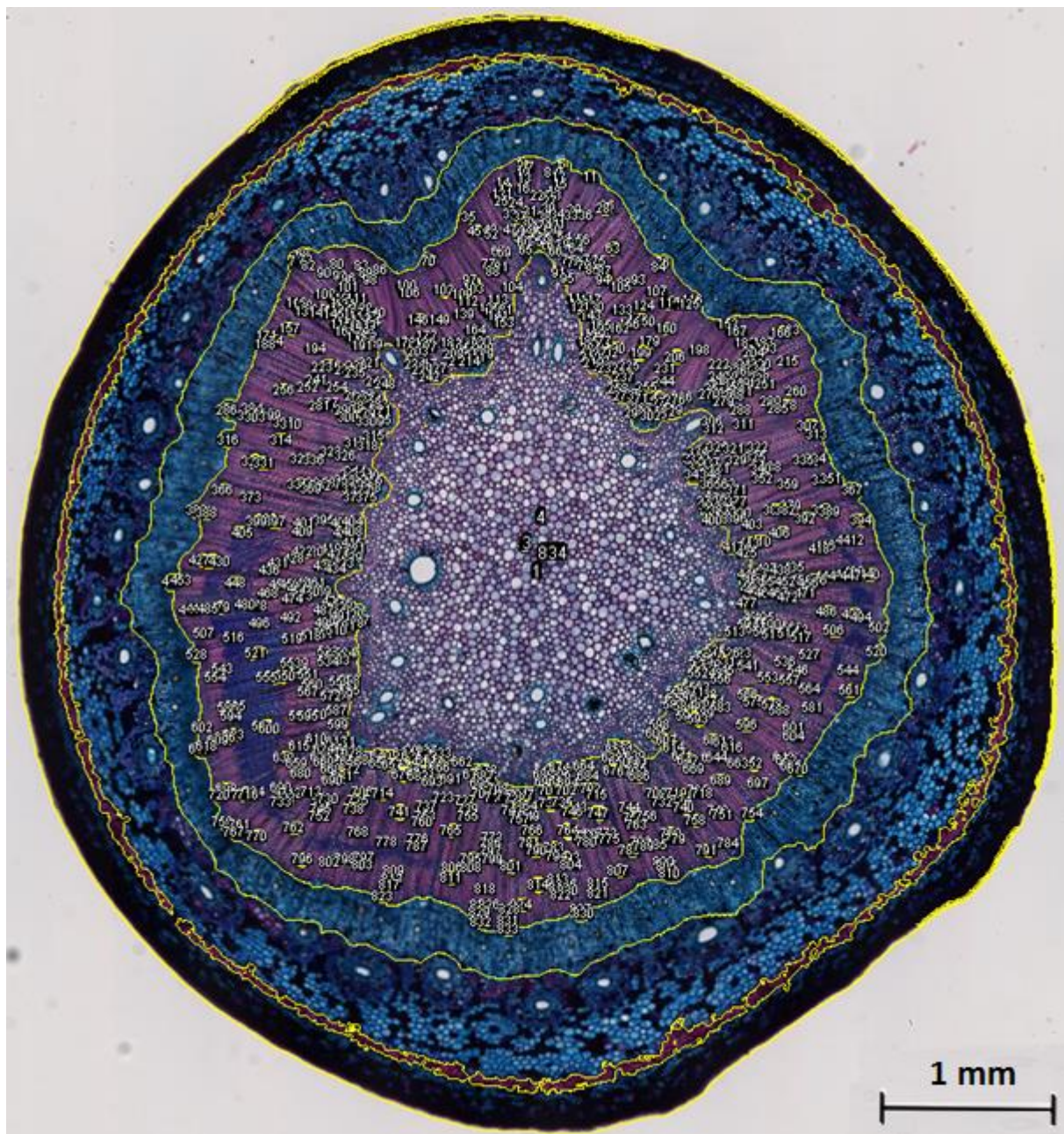
- Dichio B, Remorini D, Lang S. 2003.** Developmental changes in xylem functionality in kiwifruit fruit: implications for fruit calcium accumulation. *Acta Horticulturae* **610**: 191-195.
- Drazeta L, Lang A, Hall AJ, Volz RK, Jameson PE. 2004.** Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. *Annals of Botany* **93**: 275-282.
- Eltoum I, Fredenburgh J, Myers RB, Grizzle WE. 2001.** Introduction to the theory and practice of fixation of tissues. *Journal of Histotechnology* **24**: 173-190.
- Esau K, Cheadle VI. 1955.** Significance of cell divisions in differentiating secondary phloem. *Plant Biology* **4**: 348-357.
- Esau K, Cheadle VI. 1969.** Secondary growth in *Bougainvillea*. *Annals of Botany* **33**: 807-819.
- Ewers FW, Fisher JB, Chiu ST. 1990.** A survey of vessel dimensions in stems of tropical lianas and other growth forms. *Oecologia* **84**: 544-552.
- Fan Z-X, Cao K-F, Becker P. 2009.** Axial and radial variations in xylem anatomy of angiosperm and conifer trees in Yunnan, China. *The International Association of Wood Anatomists* **30**: 1-13.
- Fisher PJ, Petrini O. 1990.** A comparative study of fungal endophytes in xylem and bark of *Alnus* species in England and Switzerland. *Mycological Research* **94**: 313-319.
- Fishman S, Génard M. 1998.** A biophysical model of fruit growth: simulation of seasonal and diurnal dynamics of mass. *Plant, Cell and Environment* **21**: 739-752.
- Gardiner B, Berry P, Moulia B. 2016.** Review: Wind impacts on plant growth, mechanics and damage. *Plant Science* **245**: 94-118.
- Gleason SM, Westoby M, Jansen S, et al. 2016.** Weak tradeoff between xylem safety and xylem-specific hydraulic efficiency across the world's woody plant species. *New Phytologist* **209**: 123-136.
- Greenspan MD, Shackel KA, Matthews MA. 1994.** Developmental changes in the diurnal water budget of the grape berry exposed to water deficits. *Plant, Cell and Environment* **17**: 811-820.
- Hallé F, Martin R. 1968.** Étude de la croissance rythmique chez l'hévéa (*Hevea brasiliensis* Müll. – Arg., Euphorbiacées, Crotonoïdeées). *Adansonia* **8**: 475-503.
- Ho LC, Grange RI, Picken AJ. 1987.** An analysis of the accumulation of water and dry matter in tomato fruit. *Plant, Cell and Environment* **10**: 157-162.
- Hülskamp M, Schnittger A. 2012.** Plant Tissues. In: eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. <http://www.els.net> doi: 10.1002/9780470015902.a0002070.pub2
- Johnson GI, Mead AJ, Cooke AW, Dean JR. 1991.** Mango stem end rot pathogens – Infection levels between flowering and harvest. *Annals of Applied Biology* **119**: 465-473.
- Johnson GI, Mead AJ, Cooke AW, Dean JR. 1992.** Mango stem end rot pathogens – Fruit infection by endophytic colonization of the inflorescence and pedicel. *Annals of Applied Biology* **120**: 225-234.
- Ko J-H, Han K-H, Park S, Yang J. 2004.** Plant body weight-induced secondary growth in *Arabidopsis* and its transcription phenotype revealed by whole-transcriptome profiling. *Plant Physiology* **135**: 1069-1083.
- Kozłowski TT. 1964.** Shoot growth in woody plants. *The Botanical Review* **30**: 335-392.
- Kramer PJ, Boyer JS. 1995.** *Water relations of plants and soils*. Academic Press Limited, Oval Road, London, 1-14.
- Lalonde S, Wipf D, Frommer WB. 2004.** Transport mechanisms for organic forms of carbon and nitrogen between source and sink. *Annual Review of Plant Biology* **55**: 341-372.
- Lancashire JR, Ennos AR. 2002.** Modelling the hydrodynamic resistance of bordered pits. *Journal of Experimental Botany* **53**: 1485-1493.

- Lang A, Thorpe MR. 1989.** Xylem, phloem and transpiration flows in a grape: application of a technique for measuring the volume of attached fruits to high resolution using Archimedes' principle. *Journal of Experimental Botany* **40**: 1069-1078.
- Lang A. 1990.** Xylem, phloem and transpiration flows in developing apple fruits. *Journal of Experimental Botany* **41**: 645-651.
- Lang A, Düring H. 1991.** Partitioning control by water potential gradient: evidence for compartmentation breakdown in grape berries. *Journal of Experimental Botany* **42**: 1117-1122.
- Lang A, Ryan KG. 1994.** Vascular development and sap flow in apple pedicels. *Annals of Botany* **74**: 381-388.
- Larson PR. 1994.** *The vascular cambium: development and structure*. New York, USA: Springer-Verlag.
- Lauri P-É, Kelner JJ, Trottier C, Costes E. 2010.** Insights into secondary growth in perennial plants: its unequal spatial and temporal dynamics in the apple (*Malus domestica*) is driven by architectural position and fruit load. *Annals of Botany* **105**: 607-616.
- Léchaudel M, Génard M, Lescourret F, Urban L, Jannoyer M. 2002.** Leaf-to-fruit ratio affects water and dry-matter content of mango fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* **77**: 773-777.
- Léchaudel M, Joas J, Caro Y, Génard M, Jannoyer M. 2005.** Leaf:fruit ratio and irrigation supply affect seasonal changes in minerals, organic acids, and sugars of mango fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **85**: 251-260.
- Lewis AM, Boose ER. 1995.** Estimating volume flow rates through xylem conduits. *American Journal of Botany* **82**: 1112-1116.
- Liu H-F, Génard M, Guichard S, Bertin N. 2007.** Model-assisted analysis of tomato fruit growth in relation to carbon and water fluxes. *Journal of Experimental Botany* **58**: 3567-3580.
- Loepfe L, Martinez-Vilalta J, Piñol J, Mencuccini M. 2007.** The relevance of xylem network structure for plant hydraulic efficiency and safety. *Journal of Theoretical Biology* **247**: 788-803.
- Lough TJ, Lucas WJ. 2006.** Integrative plant biology: role of phloem long-distance macromolecular trafficking. *Annual Review of Plant Physiology* **57**: 203-232.
- Martre P, Durand J-L, Cochard H. 2000.** Changes in axial hydraulic conductivity along elongating leaf blades in relation to xylem maturation in tall fescue. *New Phytologist* **146**: 235-247.
- Mazzeo M, Dichio B, Clearwater MJ, Montanaro G, Xiloyannis C. 2013.** Hydraulic resistance of developing *Actinidia* fruit. *Annals of Botany* **112**: 197-205.
- Morandi B, Rieger M, Grappadelli LC. 2007.** Vascular flows and transpiration affect peach (*Prunus persica* Batsch.) fruit daily growth. *Journal of Experimental Botany* **58**: 3941-3947.
- Morandi B, Manfrini L, Losciale P, Zibordi M, Grappadelli LC. 2010.** Changes in vascular and transpiration flows affect the seasonal and daily growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) berry. *Annals of Botany* **105**: 913-923.
- Myburg AA, Lev-Yadun S, Sederoff RR. 2013.** Xylem Structure and Function. In: eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. <http://www.els.net> doi: 10.1002/9780470015902.a0001302.pub2
- Neghliz H, Cochard H, Brunel N, Martre P. 2016.** Ear Rachis Xylem Occlusion and Associated Loss in Hydraulic Conductance Coincide with the End of Grain Filling for Wheat. *Frontiers in Plant Science* **7**: 920.
- Ni H-F, Yang H-R, Chen R-S, Liou R-F, Hung T-H. 2012.** New Botryosphaeriaceae fruit rot of mango in Taiwan: identification and pathogenicity. *Botanical Studies* **53**: 467-478.

- Nordey T, Léchaudel M, Saudreau M, Joas J, Génard M. 2014.** Model-assisted analysis of spatial and temporal variations in fruit temperature and transpiration highlighting the role of fruit development. *PloS one* **9**: e92532.
- Nordey T, Léchaudel M, Génard M. 2015.** The decline in xylem flow to mango fruit at the end of its development is related to the appearance of embolism in the fruit pedicel. *Functional Plant Biology* **42**: 668-675.
- Normand F, Bissery C, Damour G, Lauri P-É. 2008.** Hydraulic and mechanical stem properties affect leaf-stem allometry in mango cultivars. *New Phytologist* **178**: 590-602.
- Normand F, Bello AKP, Trottier C, Lauri P-É. 2009.** Is axis position within tree architecture a determinant of axis morphology, branching, flowering and fruiting? An essay in mango. *Annals of Botany* **103**: 1325-1336.
- Pace MR, Lohmann LG, Angyalossy V. 2009.** The rise and evolution of the cambial variant in Bignoniaceae (Bignoniaceae). *Evolution and Development* **11**: 465-479.
- Patiño S, Tyree MT, Herre EA. 1995.** Comparison of hydraulic architecture of woody plants of differing phylogeny and growth form with special reference to free-standing and hemi-epiphytic *Ficus* species from Panama. *New Phytologist* **129**: 125-134.
- Petty JA. 1978.** Fluid flow through the vessels of birch wood. *Journal of Experimental Botany* **29**: 1463-1469.
- Poorter L, McDonald I, Alarcón A, et al. 2010.** The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* **185**: 481-492.
- Preston KA, Cornwell WK, DeNoyer JL. 2006.** Wood density and vessel traits as distinct correlates of ecological strategy in 51 California coast range angiosperms. *New Phytologist* **170**: 807-818.
- Prusky D, Kobiler I, Miyara I, Alkan N. 2009.** Fruit diseases. In: Litz RE, eds. *The Mango, Botany, Production and Uses*. 2<sup>nd</sup> edn. Seattle, WA: CAB International, 97-169.
- R Core Team. 2015.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rogiers SY, Smith JA, White R, Keller M, Holzapfel BP, Virgona JM. 2001.** Vascular function in berries of *Vitis vinifera* (L) cv. Shiraz. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **7**: 46-51.
- Sellin A, Rohejårv A, Rahi M. 2008.** Distribution of vessel size, vessel density and xylem conducting efficiency within a crown of silver birch (*Betula pendula*). *Trees* **22**: 205-216.
- Singh R, Ferrin DM, Huang Q. 2010.** First report of *Xylella fastidiosa* associated with oleander leaf scorch in Louisiana. *Plant Disease* **94**: 274-274.
- Shinozaki K, Yoda K, Hozumi K, Kira T. 1964a.** A quantitative analysis of plant form-the pipe model theory: I. Basic analyses. *Japanese Journal of Ecology* **14**: 97-105.
- Shinozaki K, Yoda K, Hozumi K, Kira T. 1964b.** A quantitative analysis of plant form - the pipe model theory. II. Further evidence of the theory and its application in forest ecology. *Japanese Journal of Ecology* **14**: 133-139.
- Smith MS, Fridley JD, Yin J, Bauerle TL. 2013.** Contrasting xylem vessel constraints on hydraulic conductivity between native and non-native woody understory species. *Frontiers in Plant Science* **4**: 486.
- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT. 1988.** A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell and Environment* **11**: 35-40.
- Sperry JS, Meinzer FC, McCulloh KA. 2008.** Safety and efficiency conflicts in hydraulic architecture: Scaling from tissues to trees. *Plant, Cell and Environment* **31**: 632-645.
- Spicer R, Groover A. 2010.** Evolution of development of vascular cambia and secondary growth. *New Phytologist* **186**: 577-592.

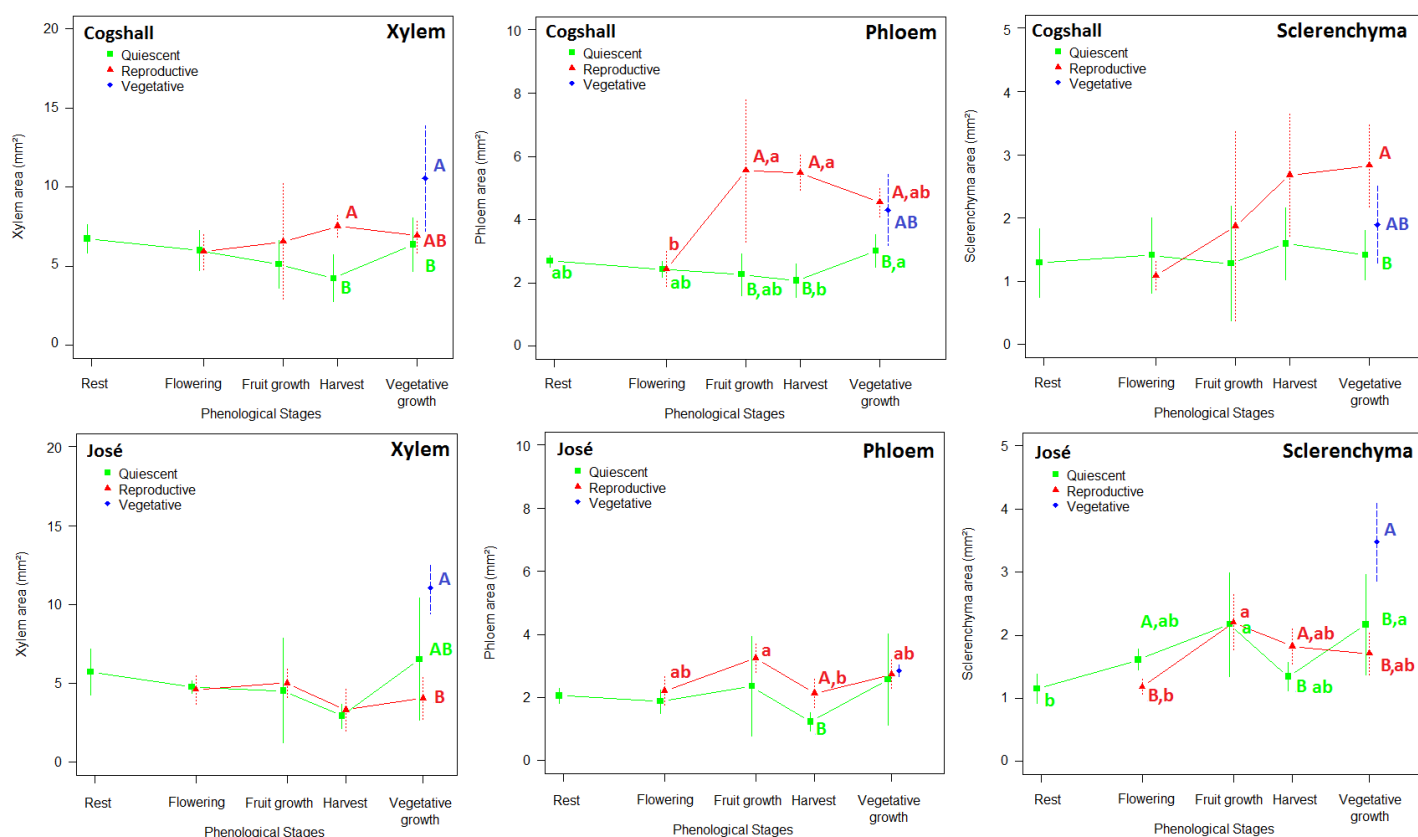
- Taneda H, Tateno M. 2004.** The criteria for biomass partitioning of the current shoot: water transport versus mechanical support. *American Journal of Botany* **91**: 1949-1959.
- Tixier A, Cochard H, Badel E, Dusotoit-Coucaud A, Jansen S, Herbette S. 2013.** *Arabidopsis thaliana* as a model species for xylem hydraulics: does size matter? *Journal of Experimental Botany* **64**: 2295-2305.
- Tolivia D, Tolivia J. 1987.** Fasta: a new polychromatic method for simultaneous and differential staining of plant tissues. *Journal of Microscopy* **1**: 113-117.
- Tyree MT, Ewers FW. 1991.** The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**: 345-360.
- Tyree MT, Zimmermann MH. 2002.** Conducting Units: Tracheids and vessels. In: Tyree MT, Zimmermann MH, eds. *Xylem structure and the ascent of sap 2<sup>nd</sup> Edition*, Springer Series in Wood Science, Wiesloch, Germany, 1:22.
- Vander Willigen C, Sherwin HW, Pammenter NW. 2000.** Xylem hydraulic characteristics of subtropical trees from contrasting habitats grown under identical environmental conditions. *New Phytologist* **145**: 51-59.
- Venning FD. 1948.** The ontogeny of the laticiferous canals in the Anacardiaceae. *American Journal of Botany* **35**: 637-644.
- Vincenot D. 2004.** *Mangues de La Réunion – origines, histoire, caractéristiques, usages culinaires*. Saint-Denis, France: Océan Editions.
- Wagner KR, Ewers FW, Davis SD. 1998.** Tradeoffs between hydraulic efficiency and mechanical strength in the stems of four co-occurring species of chaparral shrubs. *Oecologia* **117**: 53-62.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ. 2002.** Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **33**: 125-159.
- Woodrum CL, Ewers FW, Telewski FW. 2003.** Hydraulic, biomechanical, and anatomical interactions of xylem from five species of *Acer* (Aceraceae). *American Journal of Botany* **90**: 693-699.
- Wright IJ, Ackerly DD, Bongers F, et al. 2007.** Relationships among ecologically important dimensions of plant trait variation in seven neotropical forests. *Annals of Botany* **99**: 1003-1015.
- Yamato M, Iwasaki M. 2002.** Morphological types of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of understory plants in Japanese deciduous broadleaved forests. *Mycorrhiza* **12**: 291-296.
- Zimmermann MH. 1971.** Transport in the xylem. In: Zimmermann MH, Brown CL, eds. *Trees, structure and function*. Springer-Verlag, New York, Heidelberg and Berlin, 169-220.
- Zimmermann MH. 1978.** Hydraulic architecture of some diffuse-porous trees. *Canadian Journal of Botany* **56**: 2286-2295.

## Supplementary Figures

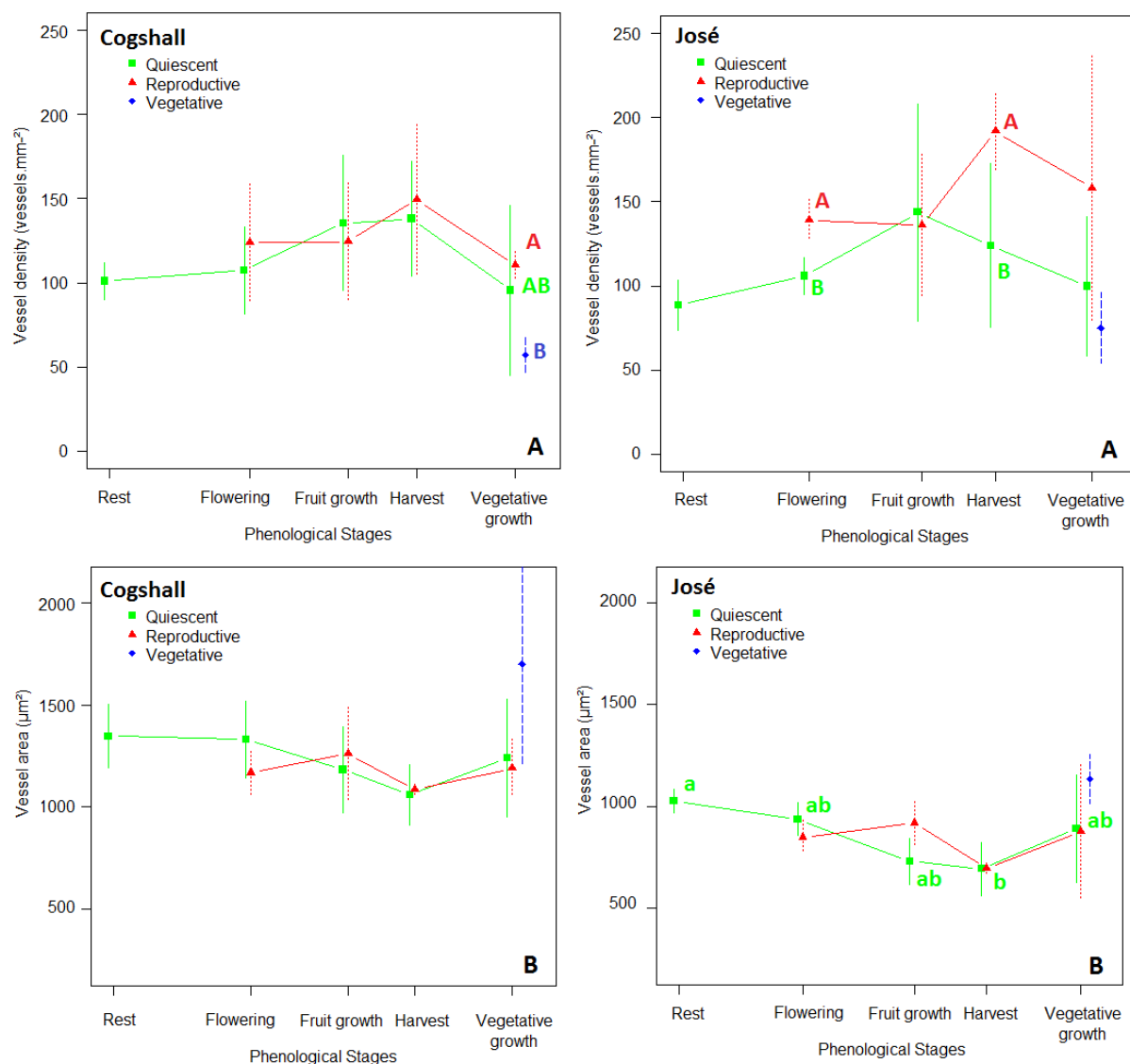


SUPPLEMENTARY FIGURE. 1. Transverse section of a growth unit of Cogshall mango cultivar stained with FASGA dye after identification of each tissue (medulla, xylem, phloem and sclerenchyma) and each xylem vessel with a programme written with ImageJ software.

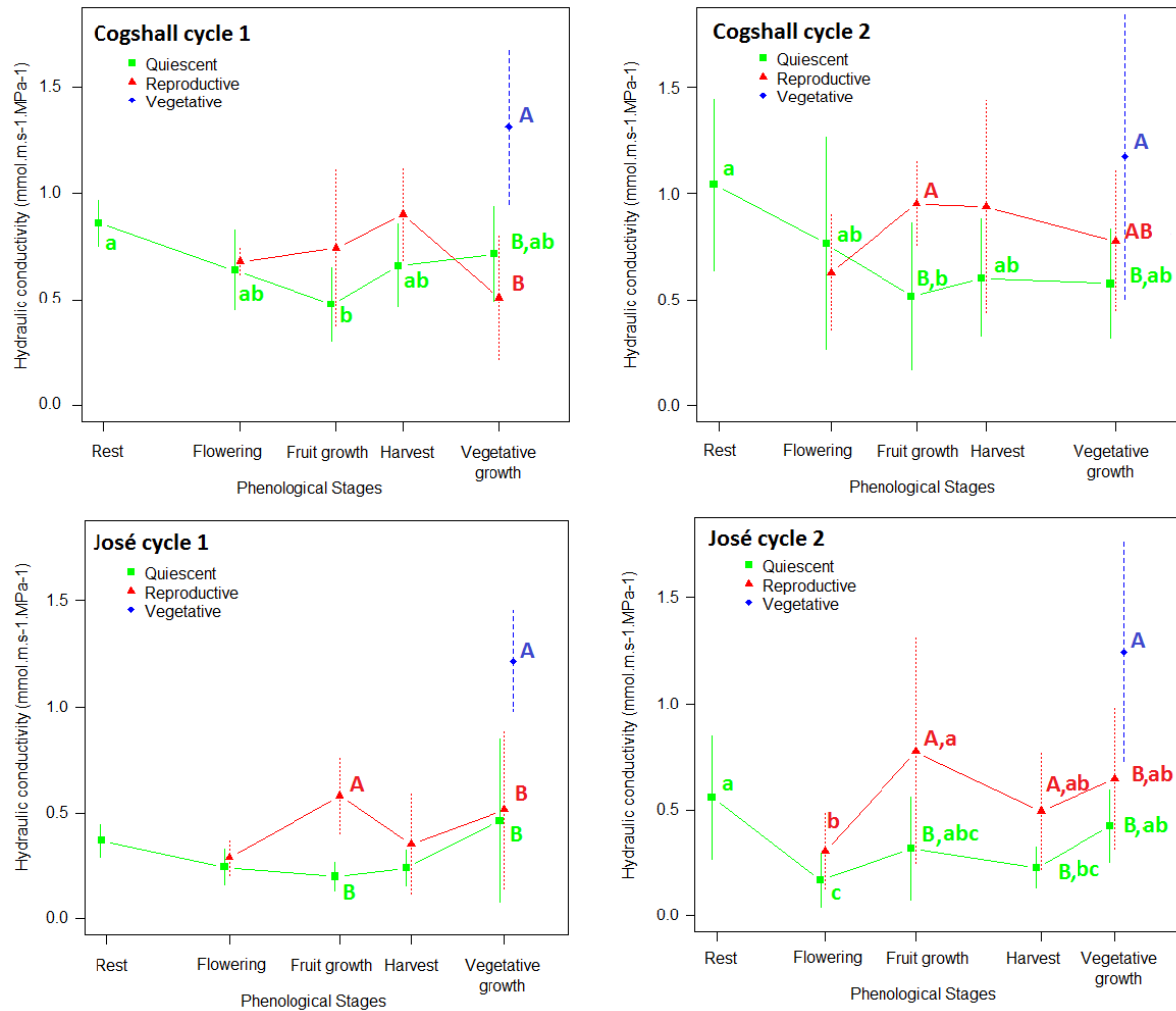




SUPPLEMENTARY FIGURE. 2. Changes (mean  $\pm$  SD) in xylem, phloem and sclerenchyma area of quiescent, reproductive and vegetative growth units (GUs) across five phenological periods (rest period, flowering, mid fruit growth, harvest, vegetative growth) for two cultivars, Cogshall and José. The distance between phenological periods on the x-axis is proportional to the number of days between each sampling date. Upper case letters, when present, indicate significantly different means between GU fates for the same phenological period, and lower case letters, when present, indicate significantly different means between phenological periods for a same GU fate (analysis of variance followed by Tukey's test,  $n=5$ ,  $P<0.05$ ).



SUPPLEMENTARY FIGURE. 3. Changes (mean  $\pm$  SD) in (A) vessel density and (B) mean vessel area of quiescent, reproductive and vegetative growth units (GUs) across five phenological periods (rest period, flowering, mid fruit growth, harvest, vegetative growth) for two cultivars (Cogshall and José). The distance between phenological periods on the x-axis is proportional to the number of days between each sampling date. Upper case letters, when present, indicate significantly different means between GU fates for the same phenological period, and lower case letters, when present, indicate significantly different means between phenological periods for the same GU fate (analysis of variance followed by Tukey's test,  $n=5$ ,  $P<0.05$ ).



SUPPLEMENTARY FIGURE. 4. Changes (mean  $\pm$  SD) in maximal hydraulic conductivity ( $K_{\max}$ ) of quiescent, reproductive and vegetative growth units across five phenological periods (rest period, flowering, mid fruit growth, harvest, vegetative growth) for two cultivars (Cogshall and José) and during two growing cycles. The distance between phenological periods on the x-axis is proportional to the number of days between each sampling date. Sample size is  $n=5$  for growing cycle 1 and  $n=10$  for growing cycle 2. Upper case letters, when present, indicate significantly different means between GU fates for the same phenological period, and lower case letters, when present, indicate significantly different means between phenological periods for the same GU fate (analysis of variance followed by Tukey's test,  $P<0.05$ ).



## Synthèse des résultats de la section 2. A.

Nous avons mis en évidence que la **reproduction** affecte de manière différente les UCs reproductrices des deux cultivars :

- Chez Cogshall, la reproduction a conduit à un développement du phloème, du xylème et du sclérenchyme, augmentant ainsi le diamètre des UCs fructifères. Le phloème et le sclérenchyme sont les tissus qui se développent le plus, en particulier le phloème, probablement en lien avec les besoins en nutriments et en eau du fruit. Le xylème se développe moins que les deux tissus précédents, suggérant que l'eau nécessaire à la croissance du fruit est principalement apportée par le phloème. Une augmentation de la conductivité hydraulique xylémienne maximale a été observée pendant la croissance des fruits, probablement liée à l'augmentation du xylème. Quelques semaines après la récolte, il est noté une forte diminution de la conductivité hydraulique maximale des UCs fructifères. Une hypothèse pour expliquer cette diminution est l'occlusion des vaisseaux du xylème, qui ont un diamètre relativement élevé chez Cogshall. Cette occlusion pourrait être due à un champignon systémique, connu chez ce cultivar, le champignon responsable du stem-end-rot.

- Chez José, la reproduction a conduit à un développement du phloème uniquement, qui a entraîné une augmentation du diamètre des UCs fructifères. Une augmentation de la conductivité hydraulique maximale a été observée pendant la croissance des fruits. Elle n'a pas diminué après la récolte comme chez Cogshall, suggérant que le phénomène d'occlusion des vaisseaux de xylème est moins présent chez ce cultivar. En particulier, José est un cultivar qui semble tolérant au stem-end-rot.

En revanche, la **croissance végétative** affecte de façon identique les UCs des deux cultivars : elle a conduit à un développement du xylème, et à une augmentation du diamètre des UCs portant un nouvel axe. Le développement du xylème s'accompagne d'une augmentation de la taille des vaisseaux, conduisant à un accroissement de la conductivité hydraulique maximale, absolue et spécifique.

La croissance d'un fruit ou d'une nouvelle UC n'a donc pas les mêmes conséquences sur l'anatomie et les caractéristiques hydrauliques de cette UC porteuse. Le cambium se différencie préférentiellement en phloème lorsque l'UC porte un fruit, et en xylème lorsque l'UC porte une nouvelle UC.

→ Cette étude a permis de mettre en évidence le fait que la reproduction affecte la morphologie (diamètre), l'anatomie (développement du phloème pour José, et du phloème, xylème et sclérenchyme pour Cogshall) et les caractéristiques hydrauliques (conductance hydraulique) des UCs fructifères, avec des différences marquées entre cultivars. Ces modifications de l'UC fructifère peuvent être assimilées à des **coûts directs** de la reproduction car elles entraînent un coût métabolique immédiat en termes de tissus mis en place.

→ Ces modifications pourraient également être assimilées à des **coûts retardés**, notamment chez Cogshall : la diminution de la conductivité hydraulique dans les UCs fructifères après la récolte, potentiellement due à des occlusions de vaisseaux, pourraient affecter négativement le débourrement végétatif ultérieur de ces UCs, via une diminution des apports d'eau xylémiens nécessaires à la croissance végétative.



## B. Effets de la reproduction sur le débourrement végétatif – Etudes des mécanismes trophiques et hormonaux impliqués dans les coûts retardés de la reproduction

### a) ARTICLE 5 – Fruit Hormones and Carbon Mobilization Affected Negatively Vegetative Bud Burst

En préparation, soumission prévue au journal *Tree Physiology*

Capelli, M., Lauri, P.-É., and Normand, F. (2017). Fruit Hormones and Carbon Mobilization Affected Negatively Vegetative Bud Burst. To submit to *Tree Physiology*.

OXFORD  
ACADEMIC

Tree Physiology

Ce papier correspond à l'étude de mécanismes trophiques et hormonaux sur deux cultivars, Cogshall et José, pour comprendre les effets de la reproduction (inflorescences et fruits) sur le débourrement végétatif de l'axe porteur.

Les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif des bourgeons latéraux de l'UC porteuse sont : (1) lorsque les inflorescences et les fruits sont présents sur les UCs porteuses, il y a **inhibition** du débourrement végétatif des bourgeons latéraux de l'UC porteuse ; (2) lorsque les inflorescences et les fruits ne sont plus présents, il y a **diminution** de la probabilité du débourrement végétatif sur les UCs porteuses par rapport à des UCs restées quiescentes ; et (3) lorsque le débourrement végétatif a lieu, il y a **retard** de ce débourrement végétatif à l'échelle de l'UC porteuse par rapport à des UCs restées quiescentes. Ces effets négatifs sur le débourrement végétatif diminuent, ou retardent, la croissance végétative qui limite le nombre de bourgeons disponibles pour la floraison suivante, et diminue la probabilité de floraison suivante.

# Fruit Hormones and Carbohydrates Mobilization Inhibited and Delayed Vegetative Bud Outgrowth

**Mathilde Capelli<sup>1</sup>, Pierre-Éric Lauri<sup>2</sup>, Mathieu Léchaudel<sup>3</sup> and Frédéric Normand<sup>1,\*</sup>**

<sup>1</sup>*Cirad, UPR HortSys, 97455 Saint-Pierre Cedex, Reunion Island, France*

<sup>2</sup>*INRA, UMR System, Campus Montpellier SupAgro, 34060 Montpellier, France*

<sup>3</sup>*Cirad, UMR Qualisud, 97130 Capesterre-Belle-Eau, Guadeloupe, France*

\* For correspondence. normand@cirad.fr +262 262 96 93 64

## ABSTRACT

Irregular fruit production, which is the consequence of the negative effect of fruit production during one cycle on reproduction at the following cycle, through the decrease of vegetative growth, is generally explained by two possibly complementary hypotheses: hormones and carbohydrates mobilization. Our study was developed in mango (*Mangifera indica* L.), for which it has been shown that reproduction decreases and delays vegetative bud outgrowth, affecting the following fruiting. Our aim was to combine hormones and carbohydrates hypotheses to understand the negative effects of reproduction on vegetative bud outgrowth, in order to improve our knowledge about irregular bearing mechanisms. We analyzed, on terminal axes with different fates of two mango cultivars, the changes in various hormones (auxin, cytokinins, abscisic acid) and carbohydrates (glucose, sucrose, starch) across consecutive phenological periods. Inflorescences and fruits produced basipetally effluxed auxin that inhibited the vegetative bud outgrowth during the reproductive period. Fruits, which are strong sink organs, accumulated carbohydrates from all neighboring axes during fruit growth. During vegetative growth, this starch depletion delayed vegetative bud outgrowth of reproductive axes for Cogshall, and of reproductive and non-reproductive axes for José. The low glucose content for José axes during fruit growth suggested that the photosynthesis was less efficient than for Cogshall axes. These differences in glucose production during fruit growth, and in starch availability during vegetative growth between the two cultivars, could be related to their different patterns of irregular bearing.

**Key-words:** Absciscic acid, Auxin, Glucose, Irregular bearing, *Mangifera indica* L., Reproduction, Starch, Vegetative growth, Zeatin.

**Abbreviations:** ABA: abscisic acid; CKs: cytokinins; IAA: indole-3-acetic acid; ZR: zeatin-riboside.

## INTRODUCTION

Irregular bearing, defined as an irregular fruit production year after year, is common in many tree fruit crops. It is characterized by years with high fruit production, i.e., ‘on’ years, and years with low fruit production, i.e., ‘off’ years (Monselise and Goldschmidt, 1982). The fact that heavy fruit load reduces flowering and fruiting in the following year is well documented (Monselise and Goldschmidt, 1982; Samach and Smith, 2013). Several studies have shown that morphological and topological characteristics of axes play an important role on the future reproduction (Lauri and Trottier, 2004; Normand *et al.*, 2009; Gaaliche *et al.*, 2012; Dambreville *et al.*, 2013). Short axes generally flower and set fruit whereas long axes produce mainly vegetative growth (Wünsche and Lasko, 2000; Kawamura and Takeda, 2006). Temporal and phenological characteristics of axes also have an important impact on

flowering, such as their date of burst or their fate (Dambreville *et al.*, 2013). It has shown that the reproductive effort during one year affects negatively reproduction during the following year at the axis scale, through negative effects on vegetative growth (Capelli *et al.*, 2016; Normand *et al.*, 2016).

These previous results on mango highlight to three negative effects of reproduction on vegetative bud burst: (1) Inflorescences and fruits inhibit lateral bud outgrowth as long as they are present on the bearing GU (Singh and Singh, 1969); (2) Flowering and fruiting decrease the probability of vegetative bud outgrowth at the axis scale (Capelli *et al.*, 2016); (3) Fruiting delays vegetative bud outgrowth when it appears (Dambreville *et al.*, 2013). These results lead to a reduced vegetative growth during the subsequent cycle, reducing the number of buds available for flowering. Later vegetative growth is also related to a lower probability of flowering in mango (Dambreville *et al.*, 2013). At the opposite of temperate fruit species, where floral induction occurs during the previous fruiting period, floral induction in the mango tree occurs just before flowering (Ramirez and Davenport, 2010). As for most temperate and tropical fruit trees, mango tree is an irregular bearing species, with various patterns depending on the cultivar (Chacko, 1986). Two, possibly complementary, hypotheses are generally discussed to explain the negative effect of high fruit load on vegetative growth, causing potentially irregular bearing: hormones and carbohydrates mobilization (Smith and Samach, 2013).

The hormones hypothesis considers that inflorescences and seeds produce a basipetal auxin flux (Wolbang *et al.*, 2004) which inhibits the outgrowth of the lateral buds located down on the axis (Ferguson and Beveridge, 2009; Waldie *et al.*, 2010; Smith and Samach, 2013) in the same way does the apical dominance (Cline, 1994; Wilson, 2000). Others hormones play role in vegetative bud outgrowth, probably involved in the hormones hypothesis. Absciscic acid, produced by roots, leaves and seeds, plays an important role in seed maturation and in vegetative development in response to various environmental stresses (Seo and Koshiba, 2002), and contributes likewise to the inhibition of bud outgrowth (Knox and Wareign, 1984; Shimizu-Sato and Mori, 2001). On the opposite, cytokinins, produced by roots and axes, stimulate vegetative bud outgrowth (Davies, 2010). However, when present, auxin inhibits local cytokinin biosynthesis (Tanaka *et al.*, 2006; Ferguson and Beveridge, 2009).

The carbohydrates hypothesis considers that high fruit load depletes at the tree or the organ levels a large proportion of carbohydrates (Smith, 1976 in 'Murcott' mandarin; Van Vuuren *et al.*, 1997 in avocado; Normand *et al.*, 2006 in mango) required for further vegetative growth (Goldschmidt and Golomb, 1982; Goldschmidt, 1999; Rohla *et al.*, 2007). In mango, carbohydrates refilling is not complete during the following vegetative growth season, limiting the following flowering and fruiting (Chacko and Ananthanarayanan, 1982; Davie and Stassen, 1997).

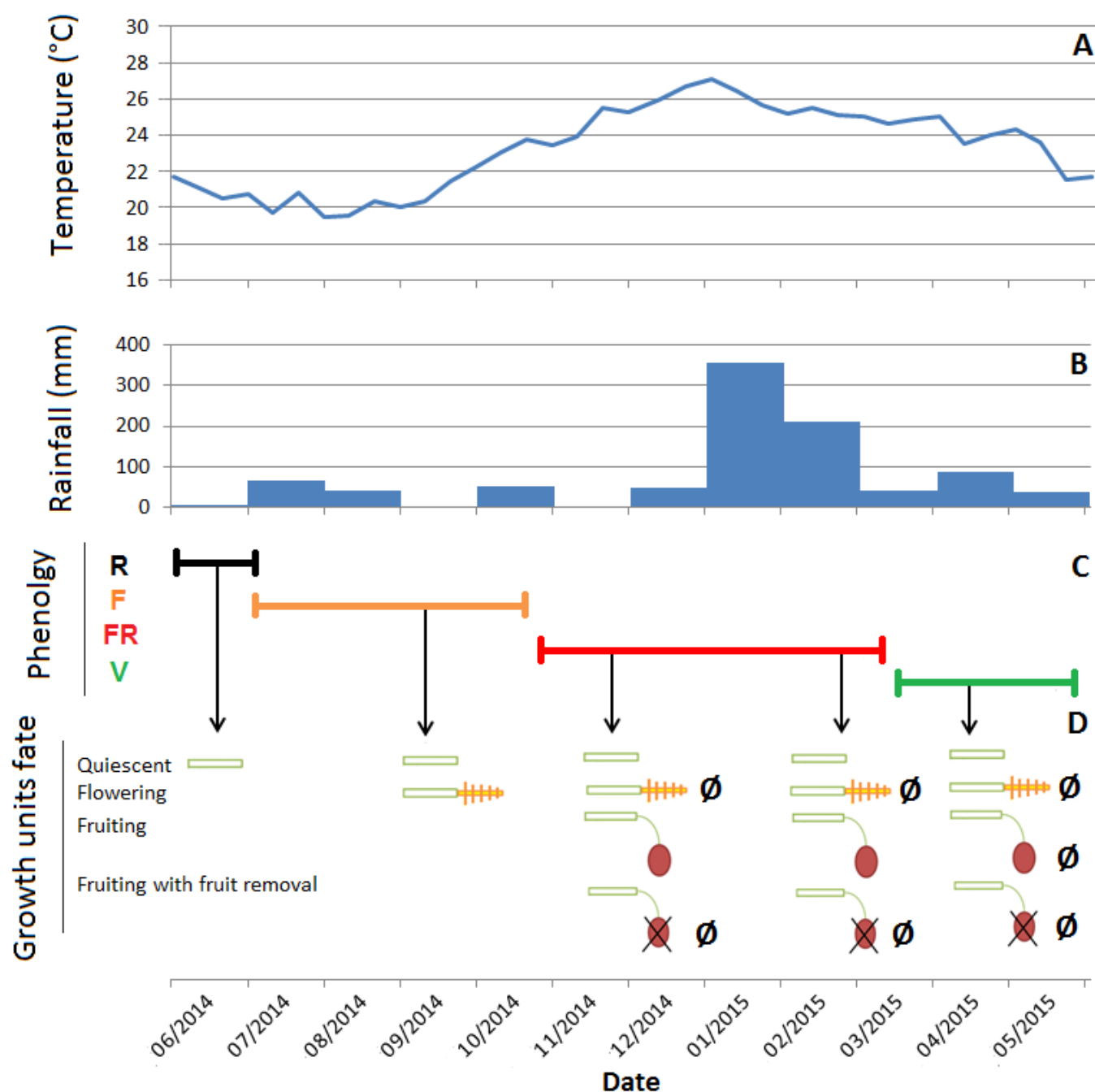
Our aim was to gain more insights into the possible involvements of hormonal control by the inflorescence and/or the fruit, and carbohydrates mobilization with fruit growth in the negative effects of reproduction on vegetative growth. We examined the dynamic changes in hormones and carbohydrates in relation with flowering and fruit development, in terminal axes of two mango cultivars across consecutive phenological periods. Our specific objectives were to answer the following questions: (1) Why vegetative bud outgrowth is inhibited on terminal GUs bearing an inflorescence or a fruit? (2) Why during the vegetative growth period fruiting GUs had a lower probability of burst, and a delayed bud outgrowth when it appears? (3) Are there any cultivars effects, potentially explaining their irregular bearing habit?

## MATERIALS AND METHODS

### Plant material, experimental design and data collection

The experimental orchard was located at the Cirad (French Agricultural Research Center for International Development) research station in Saint-Pierre, Reunion Island (21°19'21S, 55°29'25E). It was composed of ten mango cultivars with 13 trees per cultivar, all grafted onto the polyembryonic rootstock 'Maison Rouge' and planted in October 2007. Two of these cultivars were chosen for the study: 'Cogshall', a Floridian cultivar with an irregular bearing trend which represents about 25% of the mango production in Reunion Island, and 'José', a local cultivar with an alternate bearing trend which represents more than 50% of the mango production in Reunion Island (Vincenot, 2004; Hoarau *et al.*, 2009). An automatic weather station located closed to the orchard recorded temperature and rainfall (**Figure 1A** and **1B**).

The experimentation was carried out at five phenological periods from June 2014 to April 2015 (**Figure 1C**): rest period (June); flowering (September); mid fruit growth, named fruit growth hereafter (November); harvest (mature fruits) (January); and vegetative growth (April). Vegetative growth is the period during which new growth units (GUs), defined as the portion of the axis developed during an uninterrupted period of growth (Hallé and Martin, 1968; Barthélémy and Caraglio, 2007), appear in the trees. It may begin at the end of flowering and during fruit growth, but mainly occurs after harvest during the hot and rainy season. Flowering in mango tree is terminal. Inflorescences develop from the apical bud, and eventually from lateral buds, of the terminal GUs of the woody structure. Only some inflorescences set fruits. Based on these phenological data, the apical part of terminal GUs with four different fates were sampled: quiescent; flowering; fruiting; and fruiting with fruit(s) removal at mid fruit growth (**Figure 1D**). Quiescent GUs were terminal GUs that did not set any organ (inflorescence, fruit or new axis) during the experiment. They were sampled during the five phenological periods. Flowering GUs corresponded to terminal GUs which set one or several inflorescence(s) during flowering but did not set fruit. They were sampled during four phenological periods, from flowering onward. After flowering, these GUs had no more inflorescence, but they were still sampled provided they did not give new GUs. Fruiting GUs corresponded to terminal GUs which flowered and set fruit(s). They were sampled during three phenological periods, from mid fruit growth onward. During vegetative growth, reproductive GUs that bore fruit(s) few weeks before were sampled, although fruit(s) was (were) no longer present on these GUs. Fruiting GUs with fruit removal corresponded to GUs which flowered and set fruit(s), and where the fruit(s) was(were) removed at mid fruit growth. They were sampled during three phenological periods of the experiment, from mid fruit growth (ten days after the fruit removal), to vegetative growth (five months after fruit removal). The purpose of this manipulation was to examine the rapid change (10 days) in hormones and sugars in the GU when fruits were removed during fruit growth.



**Figure 1:** Mean decadal temperature (A) and monthly rainfall (B) at the experimental orchard (21°19'21S, 55°29'25E) from June 2014 to May 2015. Procedure indicating the sampling dates (vertical arrows), the tree phenological period (R: rest period; F: flowering; FR: fruit growth (mid and ripe stage); V: vegetative growth) (C) and the sampled GUs fates (quiescent, flowering, fruiting, fruiting with fruit removal) at each date (D). The different fates of GUs are schematized. Growth units are represented by green rectangles. Inflorescences are represented by orange fishbone-like symbols and fruits by red ellipses. Crossed fruit represents fruit removal at mid fruit growth. Symbol 'Ø' indicates that inflorescences or fruits were no more present on the flowering or fruiting of GUs at these sampling dates.

We labelled all the necessary flowering GUs at flowering, and all the necessary fruiting GUs at mid fruit growth, in order to have GUs with the different fates identified up to the last sampling date, when reproductive organs were no longer present on GUs. At each sampling date, five and three GUs were sampled for the hormones and the carbohydrates analyses, respectively. Several organs were also sampled for the hormones analyses when they were present on the GUs: inflorescences, inflorescence axes bearing the fruits, named ‘peduncles’ hereafter, fruits pulp and seed. Just after sampling, each sample was immersed in liquid nitrogen and freeze-dried. It was then finely ground ( $<1\ \mu\text{m}$ ) using bowls previously immersed in liquid nitrogen, and stored in airtight pillboxes at  $-20\ ^\circ\text{C}$ . They were sent to the Institut Jean-Pierre Bourgin at Versailles, France (INRA/AgroParisTech – UMR 1318; <http://www-ijpb.versailles.inra.fr/fr/plateformes/Observatoire-du-vegetal.html>) for the hormones analyses and to the INRA Research center at Avignon, France (PSH unit; <http://www6.paca.inra.fr/psh>) for carbohydrates analyses.

### Hormones analysis

For each sample, 10mg of dry powder were extracted with 0.8mL of acetone/water/acetic acid (80/19/1 v:v:v). Absciscic acid (ABA), zeatin-riboside (Z, an active form of cytokinins, CKs), and indole-3-acetic acid (IAA; an active form of auxin) stable labelled isotopes used as internal standards were prepared as described in Le Roux *et al.* (2014). 2ng of each standard was added to the sample. The extract was vigorously shaken for 1min, sonicated for 1min at 25Hz, shaken for 10min at  $10^\circ\text{C}$  in a Thermomixer (Eppendorf®), and then centrifuged (8.00g,  $10^\circ\text{C}$ , 10min.). The supernatant was collected, and the pellet was re-extracted twice with 0.4 mL of the same extraction solution, then vigorously shaken (1min) and sonicated (1min; 25Hz). After centrifugation, the three supernatants were pooled and dried. Each dry extract was dissolved in 100 $\mu\text{L}$  of acetonitrile/water (50/50 v/v), filtered, and analyzed using a Waters Acquity ultra performance liquid chromatograph coupled to a Waters Xevo Triple quadrupole mass spectrometer TQS (UPLC-ESI-MS/MS). The compounds were separated on a reverse-phase column (Uptisphere C18 UP3HDO, 100\*2.1mm\*3 $\mu\text{m}$  particle size; Interchim, France) using a flow rate of 0.4mL.min<sup>-1</sup> and a binary gradient: (A) acetic acid 0.1% in water (v/v) and (B) acetonitrile with 0.1% acetic acid, the column temperature was  $40\ ^\circ\text{C}$ . We used the following binary gradient (time, %A): (0min, 98%), (3min, 70%), (7.5min, 50%), (8.5min, 5%), (9.6min, 0%), (13.2min, 98%), (15.7min, 98%). Mass spectrometry was conducted in electrospray and Multiple Reaction Monitoring scanning mode (MRM mode), in positive ion mode for the IAA and in negative ion mode for the other hormones. Relevant instrumental parameters were set as follows: capillary 1.5kV (negative mode), source block and desolvation gas temperatures:  $130^\circ\text{C}$  and  $500^\circ\text{C}$ , respectively. Nitrogen was used to assist the cone and desolvation (150L.h<sup>-1</sup> and 800L.h<sup>-1</sup>, respectively), argon was used as the collision gas at a flow of 0.18mL.min<sup>-1</sup>. Quantification and detection thresholds were calculated independently for each hormone, each organ and each sampling date.

### Carbohydrates analysis

Before each sample analysis, sample powder was dried at a moderate temperature ( $50^\circ\text{C}$ ) in an oven and then brought back to room temperature in a desiccator before the assay samples were weighed (Gomez *et al.*, 2007). A first step was the extraction and purification of soluble components. Then, enzymatic assay method with microplates (MP) was used. Samples were diluted to obtain an appropriate final sugar concentration which was inclusive of the calibration standard (0 to 0.066g.L<sup>-1</sup> for each soluble sugar, glucose, fructose and sucrose). Enzymatic reactions were performed directly in each MP well. Glucose, fructose



and sucrose concentrations were successively quantified by measuring the production of NADH. The enzyme produced phosphoglucose from phosphofructose, and the resulting production of NADH in presence of G6PDH was proportional to the initial fructose content in the extract. Sugar molecular weights were considered to calculate the initial sucrose concentration from the glucose produced (Gomez *et al.*, 2007). Starch was analyzed using a method adapted from that described by Gomez *et al.* (2007). After dispersing starch by autoclaving (2b, 120°C, 2h), starch was hydrolyzed into glucose with amyloglucosidase (6IU/tube) in a water-bath (56°C, 1h30). Glucose was determined in the supernatant using the previous MP method (Gomez *et al.*, 2007).

## Data analysis

Statistical analyses were performed with the R software (R Core Team, 2015). Analysis of variance followed by Tukey's comparison of means test was used to analyse the effects of one of the three factors, GU fate, sampling date or cultivar, on hormones and carbohydrates content at the GU scale. The P-value threshold was  $P < 0.05$ .

## RESULTS

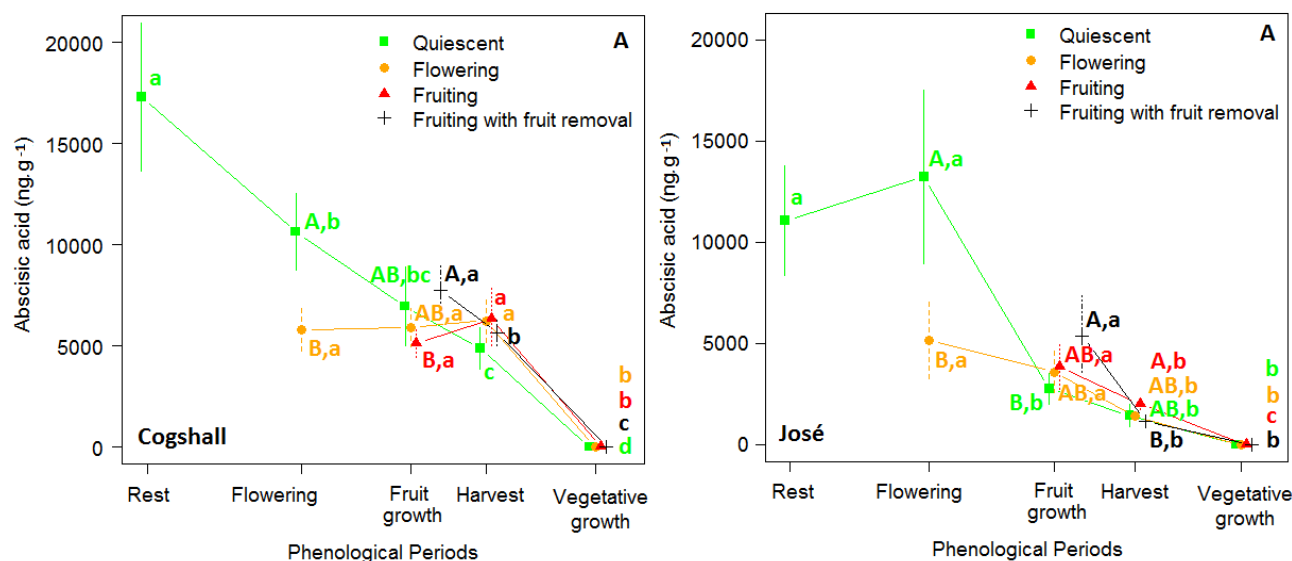
### *Hormones in growth units*

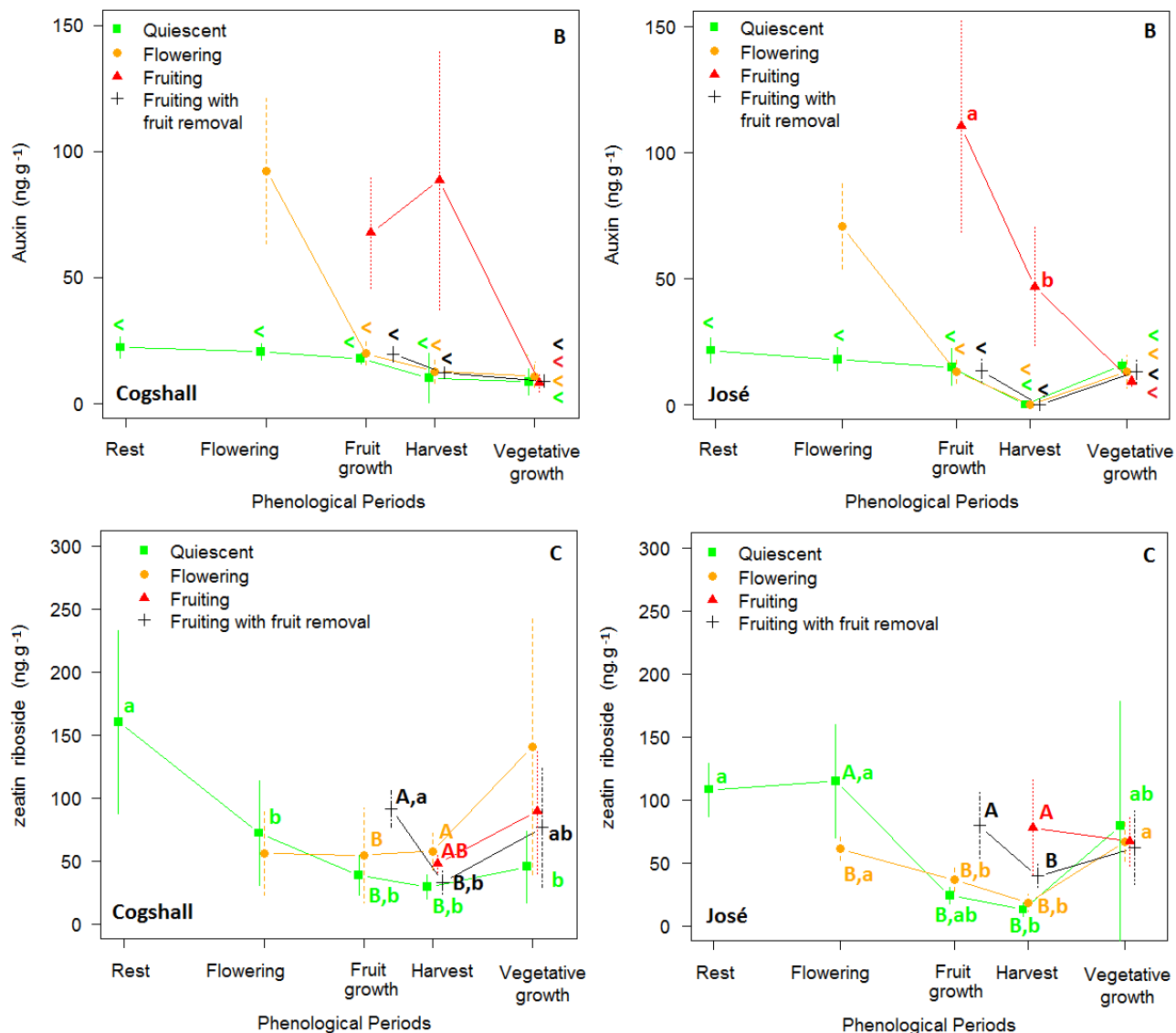
For both cultivars, ABA content in GUs of the different fates showed significant differences among phenological periods, with a general decreasing trend from the rest period to vegetative growth, where it reached a minimum (**Figure 2A**). For Cogshall, ABA content in quiescent GUs regularly and significantly decreased between rest period, where it was maximal, and vegetative growth. For José, it remained constant between the rest period and flowering, where it was maximal. It significantly decreased between flowering and fruit growth, and then decreased, not significantly, up to vegetative growth. For Cogshall, ABA content of flowering GUs remained constant between flowering and harvest, and then significantly decreased at vegetative growth. For José, it regularly and significantly decreased from flowering to vegetative growth. For Cogshall, ABA content of fruiting GUs remained constant between fruit growth and harvest, and then significantly decreased between harvest and vegetative growth. For José fruiting GUs, ABA content regularly and significantly decreased from fruit growth to vegetative growth. ABA content in Cogshall and José fruiting GUs with fruit removal followed the same pattern than the one of José fruiting GUs. ABA content also showed significant differences among GUs fates for several phenological periods. At flowering, ABA content in quiescent GUs was more than two fold higher than in flowering GUs for both cultivars. At fruit growth, Cogshall fruiting GUs with fruit removal had significantly higher ABA content than fruiting GUs, and quiescent and flowering GUs had intermediate values. For José, fruiting GUs with fruit removal had significantly higher ABA content than quiescent GUs, with intermediate values for fruiting and flowering GUs. At harvest, José fruiting GUs had significantly higher ABA content than fruiting GUs with fruit removal, and quiescent and flowering GUs had intermediate values. At harvest for Cogshall, and at vegetative growth for both cultivars, ABA content was similar among GUs fates. At vegetative growth, it is noteworthy that ABA content was remarkably low for all GUs fates.

IAA content of quiescent and fruiting GUs with fruit removal was constantly under quantification thresholds for both cultivars (**Figure 2B**). For both cultivars, IAA content of flowering GUs was maximal when an inflorescence was present. At flowering, IAA content was similar between Cogshall and José. It then decreased at fruit growth under the

quantification threshold and remained under this threshold up to vegetative growth, at a level similar to the one of quiescent GUs. For Cogshall, IAA content of fruiting GUs was maximal at fruit growth and at harvest, when a fruit was borne by the GUs, with however a large variability among data. It then decreased under the quantification threshold at vegetative growth, at a level similar to the one of quiescent GUs. For José, IAA content of fruiting GUs was maximal at fruit growth. It significantly decreased at harvest, and then at vegetative growth where IAA content was below the quantification threshold. IAA content of fruiting GUs was not significantly different between Cogshall and José at fruit growth and harvest. Moreover, IAA content of flowering GUs at flowering was not significantly different from IAA content of fruiting GUs at fruit growth and harvest for both cultivars.

ZR content of Cogshall quiescent GUs significantly decreased from the rest period, when it was maximal, to flowering, and then remained about constant at a low level up to vegetative growth (**Figure 2C**). A minimum was observed at harvest. ZR content of José quiescent GUs was maximal and constant during the rest period and flowering. It then decreased up to harvest, when it was minimal, and then increased, but not significantly, at vegetative growth. For Cogshall, ZR content of flowering GUs remained constant from flowering to harvest, and then increased, markedly but not significantly, at vegetative growth. For José, it significantly and regularly decreased between flowering and harvest, and then significantly increased up to vegetative growth, reaching the same level than at flowering. ZR content of fruiting GUs was available only for the last two sampling dates, harvest and vegetative growth. For Cogshall, it increased markedly but not significantly between harvest and vegetative growth, whereas for José it remained constant. For Cogshall, ZR content of fruiting GUs with fruit removal was maximal at fruit growth. It significantly decreased up to harvest, and then increased at vegetative growth at an intermediate level. The same pattern was observed for José, but differences were not significant. ZR content also showed significant differences among GU fates for several phenological periods. At flowering, José flowering GUs had significantly lower ZR content than quiescent GUs. At fruit growth, fruiting GUs with fruit removal had significantly higher ZR content than flowering and quiescent GUs for both cultivars. At harvest, flowering GUs had significantly higher ZR content than quiescent and fruiting GUs with fruit removal for Cogshall, and fruiting GUs had intermediate values. For José, fruiting GUs had significantly higher ZR content than GUs with the other fates. No significant differences were observed at vegetative growth for both cultivars. All large variability was observed in the data at this date.





**Figure 2:** Changes (mean  $\pm$  SD) in abscisic acid (A), auxin (B) and zeatin-riboside (C) content ( $\text{ng.g}^{-1}$  of dry matter) in terminal mango growth units (GUs) with different fates (quiescent; flowering; fruiting; fruiting with fruit removal) across five phenological periods (rest; flowering; mid fruit growth; harvest; vegetative growth) for two mango cultivars (Cogshall, José). The distance between phenological periods on the x-axis is proportional to the number of days between each sampling date. For each date, a noise is introduced to avoid a superposition of means and standard deviation bars. An exception for fruiting GUs with fruit removal at fruit growth which were sampled 10days after the other GUs. Upper case letters, when present, indicate significantly different means between GU fates for the same phenological period, and lower case letters, when present, indicate significantly different means between phenological periods for a same GU fate (analysis of variance followed by Tukey's test,  $n=5$ ,  $P<0.05$ ). '<' symbol indicates that values are under the quantification threshold. Auxin quantification threshold is  $45.85\text{ng.g}^{-1}$  at rest and flowering,  $34.40\text{ng.g}^{-1}$  at fruit growth and harvest and  $22.90\text{ng.g}^{-1}$  at vegetative growth.

#### *Hormones in inflorescence, peduncle, pulp and seed*

ABA and IAA contents in inflorescences were not significantly different between cultivars. Mean ABA content in inflorescences ( $21.7 \pm 5.6\text{ng.g}^{-1}$ ) was much lower than in

GUs, except at vegetative growth. Mean IAA content in inflorescences ( $63.8 \pm 32.2\text{ng.g}^{-1}$ ) was not significantly different than in flowering GUs at flowering, and in fruiting GUs at fruit growth and harvest. ZR content was significantly higher in José inflorescences ( $131.5 \pm 22.0\text{ng.g}^{-1}$ ) than in Cogshall inflorescences ( $80.9 \pm 17.5\text{ng.g}^{-1}$ ). These levels were higher, but not significantly, than in flowering GUs.

ABA content in fruit pulp significantly increased between fruit growth and harvest for both cultivars (**Table 1**). For Cogshall, ABA content in seed significantly decreased between fruit growth and harvest, whereas for José it increased but not significantly, probably because of the large variability among the data. In peduncles, ABA content was dramatically lower than in pulp and seed and than in inflorescence at flowering. It significantly increased between fruit growth and harvest for Cogshall, whereas it significantly decreased for José. IAA content in seed and pulp was under the quantification threshold. There was no significant difference in IAA content in peduncle between fruit growth and harvest for Cogshall, as observed in the corresponding fruiting GUs. For José, a marked but not significant reduction of IAA content in peduncle was revealed between fruit growth and harvest, as observed in the corresponding fruiting GUs. IAA content in peduncle was notably higher than IAA content in pulp and seed, and it was similar to the levels recorded in the fruiting GUs at these dates. ZR was measured in seed and peduncle, but not in pulp for both cultivars. There was no significant difference between fruit growth and harvest in ZR content in seed and peduncle for both cultivars. ZR content in seed and peduncle was higher but not significantly than in corresponding fruiting GUs.

**Table 1:** Absciscic acid, auxin and zeatin-riboside contents ( $\text{ng.g}^{-1}$  of dry matter) in pulp, seed and peduncle of mango fruit at fruit growth and at harvest for two cultivars, Cogshall and José. Means followed by different letters are significantly different between fruit growth and harvest for the same organ and cultivar (analysis of variance,  $n=5$ ,  $P<0.05$ ). nq: not quantified (quantification threshold:  $9.86\text{ng.g}^{-1}$  for auxin)

Hormone	Organ	Cogshall			José		
		Fruit growth	Harvest	<i>P</i>	Fruit growth	Harvest	<i>P</i>
Absciscic acid	Pulp	$527.8 \pm 206.3$ b	$3061.3 \pm 1924.9$ a	<b>0.04</b>	$765.9 \pm 205.7$ b	$3149.0 \pm 1375.9$ a	<b>0.01</b>
	Seed	$2086.7 \pm 517.6$ a	$525.8 \pm 206.5$ b	<b>&lt;0.001</b>	$640.5 \pm 159.7$	$1630.1 \pm 1471.9$	0.23
	Peduncle	$5.8 \pm 0.8$ b	$8.2 \pm 1.6$ a	<b>0.02</b>	$3.6 \pm 0.7$ a	$2.3 \pm 1.0$ b	<b>0.04</b>
Auxin	Pulp	$5.3 \pm 1.4$ nq	$5.1 \pm 2.1$ nq	-	$8.1 \pm 1.9$ nq	$3.6 \pm 1.6$ nq	-
	Seed	$2.8 \pm 0.8$ nq	$1.9 \pm 0.7$ nq	-	$5.8 \pm 2.1$ nq	$1.7 \pm 1.1$ nq	-
	Peduncle	$93.2 \pm 14.5$	$85.0 \pm 35.2$	0.64	$96.8 \pm 30.4$	$49.6 \pm 35.0$	0.05
Zeatin-riboside	Pulp	-	-	-	-	-	-
	Seed	$111.0 \pm 106.6$	$80.4 \pm 42.8$	0.57	$116.9 \pm 29.2$	$47.0 \pm 65.0$	0.08
	Peduncle	$177.4 \pm 36.2$	$174.6 \pm 25.6$	0.89	$219.4 \pm 33.4$	$246.5 \pm 73.0$	0.47

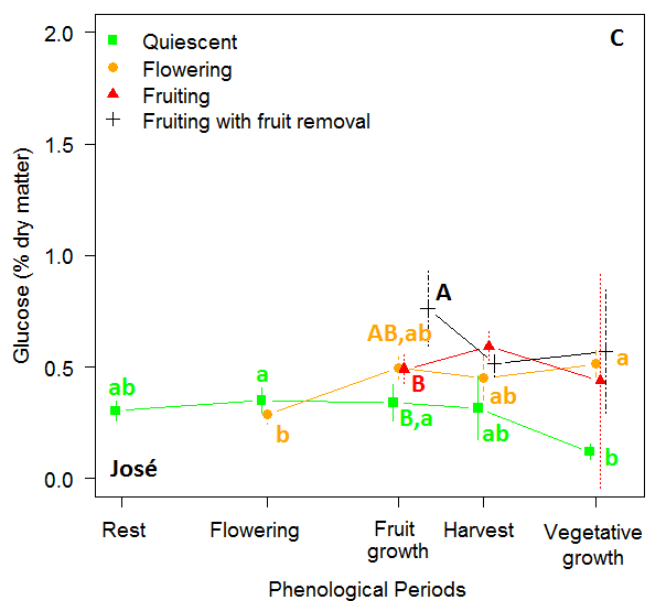
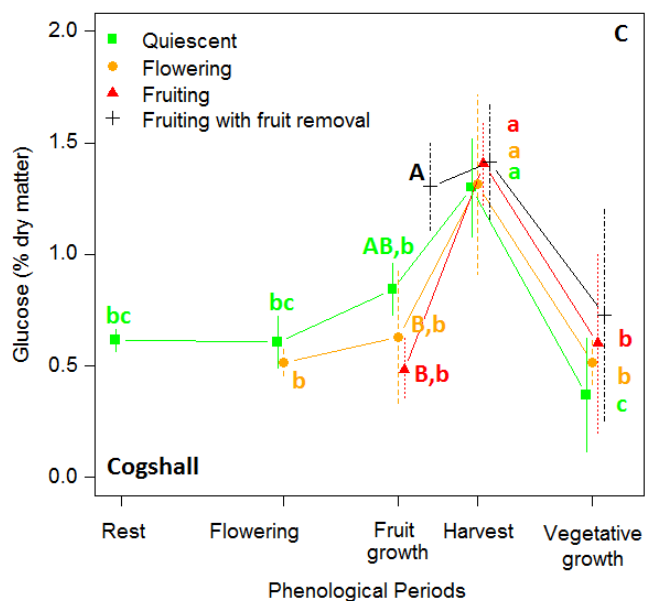
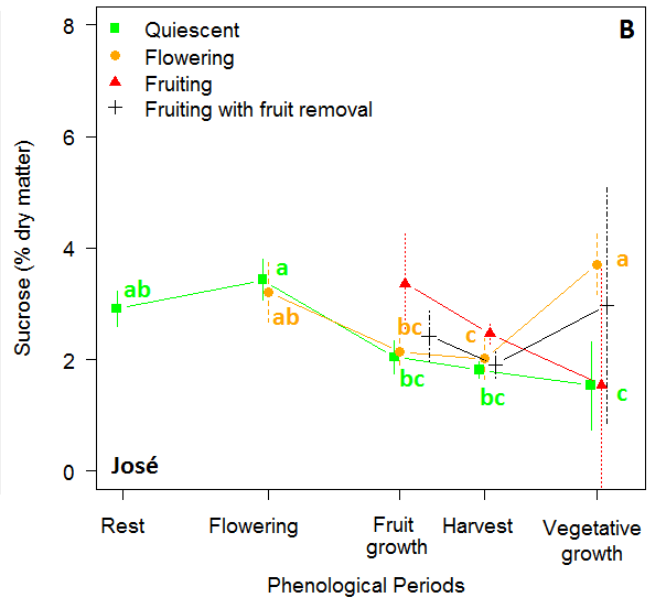
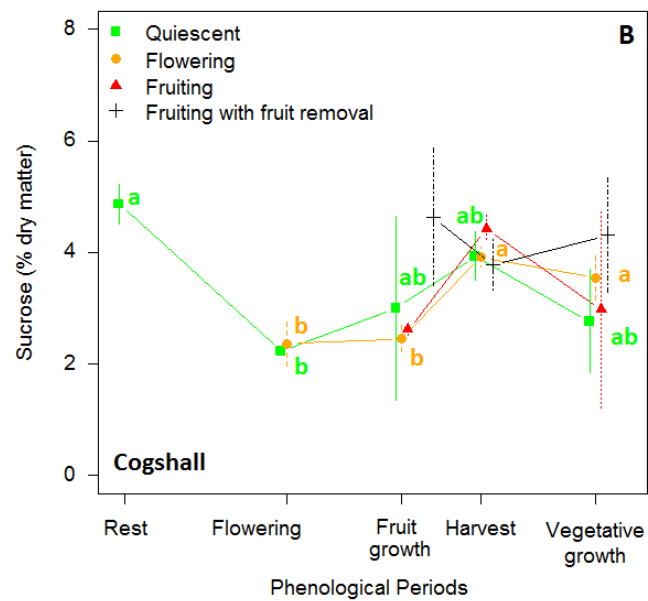
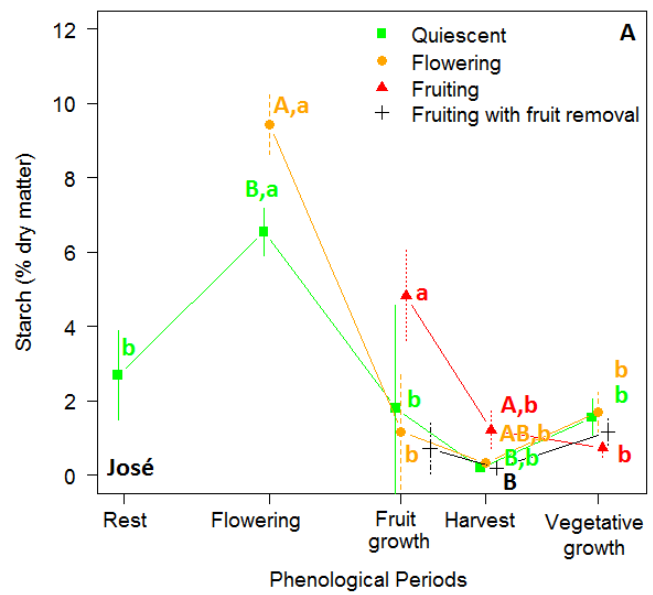
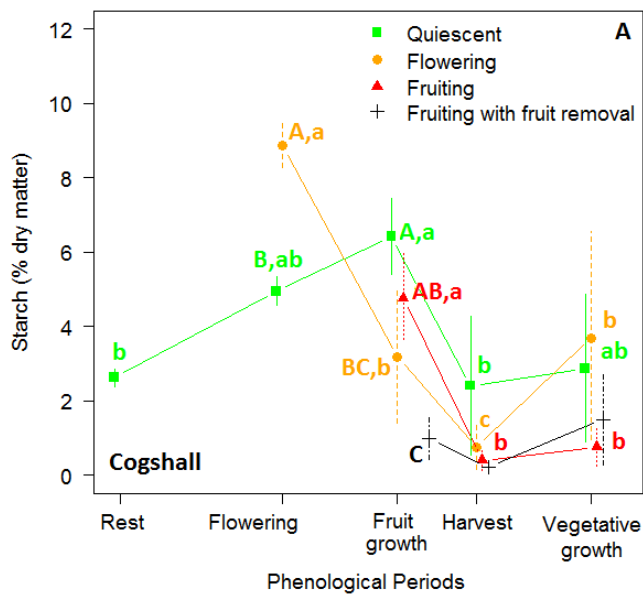
#### *Carbohydrates in growth units*

Starch content in Cogshall quiescent GUs regularly and significantly increased from the rest period and reached a maximum at fruit growth. It then significantly dropped, divided by three, between fruit growth and harvest, and remained constant up to vegetative growth (**Figure 3A**). For José, it significantly increased from the rest period and reached a maximum at flowering. Then it significantly dropped between flowering and fruit growth, and remained

about constant until vegetative growth, with a minimum at harvest. For both cultivars, starch content in flowering GUs was maximal at flowering and then significantly decreased between flowering and harvest. It slightly increased at vegetative growth, but not significantly for José. For both cultivars, starch content in fruiting GUs was maximal at fruit growth and markedly and significantly decreased up to harvest. It then remained constant at a low level until vegetative growth. For both cultivars, starch content in fruiting GUs with fruit removal was low and constant between fruit growth and vegetative growth. Starch content showed significant differences among GU fates for several phenological periods. At flowering, starch content was significantly higher in flowering GUs than in quiescent GUs for both cultivars. At fruit growth, Cogshall quiescent GUs had significantly higher starch content than flowering and fruiting GUs with fruit removal, and fruiting GUs had intermediate values. There was no significant difference for José because of the large variability among data, although marked differences were observed between fruiting GUs, with the higher starch content, and other GUs. At harvest, José fruiting GUs had significantly higher starch content than fruiting GUs with fruit removal and quiescent GUs, and flowering GUs had intermediate values. There was no significant difference for Cogshall at harvest despite marked differences between quiescent GUs, with the higher starch content, and other GUs. At vegetative growth, no significant difference for Cogshall between GU fates were observed for both cultivars despite marked differences between fruiting and fruiting GUs with fruit removal, which had low starch content, and quiescent and flowering GUs. Differences were less pronounced for José.

For both cultivars, quiescent and flowering GUs only showed significant differences in sucrose content among phenological periods, because of the high variability of sucrose content in fruiting GUs with or without fruit removal (**Figure 3B**). Sucrose content in Cogshall quiescent GUs was maximal at the rest period. It significantly decreased up to flowering, then increased and remained more or less constant between fruit growth and vegetative growth. For José, it remained constant between rest and flowering where it reached a maximum, and then regularly and significantly decreased up to vegetative growth. For Cogshall, sucrose content in flowering GUs was constant and minimal between flowering and fruit growth. It then increased significantly at harvest and remained constant up to vegetative growth. For José, it significantly decreased from flowering to harvest, and then significantly increased up to vegetative growth where it reached a maximum. No significant differences in sucrose content were observed between GUs fates for both cultivars.

Glucose content in Cogshall quiescent, flowering and fruiting GUs regularly and significantly increased up to harvest where they all reached a maximum with approximately the same value (**Figure 3C**). It then significantly dropped up to vegetative growth where it reached a minimum. Changes in glucose content were different for José GUs. In quiescent GUs, glucose content remained constant between the rest period and fruit growth, and then it significantly decreased up to vegetative growth. In flowering GUs, glucose content increased from flowering to fruit growth. It then remained more or less constant and reached a maximum at vegetative growth. Changes in glucose content in fruiting GUs with or without fruit removal were weak and not significant. Glucose content showed significant differences among GUs fates only during fruit growth for both cultivars. For Cogshall, fruiting GUs with fruit removal had higher glucose content than fruiting and flowering GUs, and quiescent GUs had intermediate values. For José, fruiting GUs with fruit removal had higher glucose content than fruiting and quiescent GUs, and flowering GUs had intermediate values. The pattern of fructose content was similar to the one of glucose content and it is not presented here.



**Figure 3:** Changes (mean  $\pm$  SD) in starch (A), sucrose (B) and glucose content (C) (% of dry matter) in terminal mango growth units with different fates (quiescent; flowering; fruiting; fruiting with fruit removal) across five phenological periods (rest; flowering; mid fruit growth; harvest; vegetative growth) for two mango cultivars (Cogshall, José). The distance between phenological periods on the x-axis is proportional to the number of days between each sampling date. For each date, a noise is introduced to avoid a superposition of means and standard deviation bars. An exception for fruiting GUs with fruit removal at fruit growth which were sampled 10days after the other GUs. Upper case letters, when present, indicate significantly different means between GU fates for the same phenological period, and lower case letters, when present, indicate significantly different means between phenological periods for a same GU fate (analysis of variance followed by Tukey's test,  $n=3$ ,  $P<0.05$ ).

## DISCUSSION

Inflorescences, and more notably fruits, play a major role in regulating the burst of axillary buds along the bearing axis (Smith and Samach 2013). Two hypotheses involving hormones or carbohydrates are generally cited to explain this role. Although sugar can be controlled by hormones (León and Sheen, 2003), and they both known to play role in reproduction and vegetative growth (Smith and Samach, 2013), hormones and carbohydrates are rarely considered together to studied negative effects of reproduction on vegetative bud outgrowth.

This study led us to answer three questions:

- (1) Why vegetative bud outgrowth is inhibited on terminal GUs bearing an inflorescence or a fruit during the reproductive period?
- (2) Why during the vegetative growth period fruiting GUs had a lower probability of burst, and a delayed bud outgrowth when it appears?
- (3) Are there any cultivars effects, potentially explaining their irregular bearing habit?

First, one may wonder why vegetative bud outgrowth did not occur on quiescent GUs during the rest period. For both cultivars, ABA and ZR contents were high in quiescent GUs compared to the other phenological periods, and IAA content was low in these quiescent GUs (**Figure 2**). These results were in accordance with previous studies, where an accumulation of CKs has been shown in buds of *Citrus sinensis* during the rest period (Hendry *et al.*, 1982; Saidha *et al.*, 1983). This CKs accumulation stimulates shoot initiation, as shown by application of exogenous CKs in citrus (Nauer and Boswell, 1981), mango (Núñez-Elisea *et al.*, 1990) and potato (Jarret *et al.*, 1980). A low level of IAA has also been evidenced during winter dormancy in shoots of *Pseudotsuga menziesii* (Deyoe and Zaerr, 1976). This low IAA level could be favorable to burst outgrowth, since an application of IAA can inhibit bud burst (Antcliff and May, 1961). The high content of ZR and the low content of IAA suggested that quiescent GUs could potentially burst during the rest period. However, ABA content was high in quiescent GUs at this time. This result was probably related to water stress (Giday *et al.*, 2014; Shalom *et al.*, 2014) since during the rest period, trees are affected by abiotic stresses, such as cool temperatures (**Figure 1A**) and low water availability (**Figure 1B**). Moreover, ABA inhibits bud outgrowth since the decrease of ABA content after apex removal leads to the onset of bud outgrowth (Knox and Wareing, 1984). Therefore, the inhibition of vegetative burst in quiescent GUs during the rest period could be related to high ABA content.

*Why vegetative bud outgrowth is inhibited on terminal GUs bearing an inflorescence or a fruit during the reproductive period?*

During the reproductive period, flowering and fruiting GUs had significantly higher IAA content than quiescent GUs for both cultivars, as long as inflorescences and fruits were present on GUs (**Figure 2B**). Indeed, 10 days after fruit removal, IAA content of fruiting GUs with fruit removal was very low, at the same level that quiescent GUs. It has been shown in many species, from herbaceous plants to fruit trees, including mango, that IAA is produced by developing inflorescences and fruits (Chacko *et al.*, 1970; Lee, 1988; Wolbang *et al.*, 2004). IAA moves then basipetally, with high export rate, to the bearing shoot via the polar auxin transport system (Goldsmith, 1977; Bangerth, 1992; Friml and Palme, 2002), in agreement with our results of high IAA content in peduncle (**Table 1**) and in fruiting GUs (**Figure 2B**). The low IAA content measured in seed (**Table 1**), under the quantification threshold, was potentially explained by the sampling of the whole seed, and not only the embryo which produces IAA, that diluted IAA content.

A decrease of ZR content for quiescent GUs was observed at flowering for Cogshall and at fruit growth for José. This decrease could be related to the decrease of sucrose content at the same time (**Figure 3B**) since sucrose upregulates CKs biosynthesis in stem tissues (Barbier *et al.*, 2015). Moreover, for both cultivars, ZR content was low in all GUs during the reproductive period, except for fruiting GUs with fruit removal. Our results suggested that IAA produced by inflorescences and fruits and exported to the GU affected negatively the synthesis of ZR, an active form of CKs, in the GU axis. Several studies show that shoot decapitation, corresponding to the removal of IAA basipetal flux, increases rapidly, in 6 hours, stem CK content (Bangerth, 1994; Li *et al.*, 1995; Turnbull *et al.*, 1997). This could explain the higher ZR content in fruiting GUs with fruit removal at fruit growth for both cultivars, since the fruit, i.e., the source of IAA, was removed 10 days before sampling. At fruit growth, the highest ABA content was recorded in fruiting GUs with fruit removal for both cultivars. ABA is produced by mature leaves and roots, and migrates to fruits where it entailing their ripening (Davies, 2010). The high ABA content in fruiting GUs with fruit removal was probably related to fruit removal 10 days before sampling, stopping ABA migration to the fruit and leading to an accumulation of ABA in the GU. ABA content significantly increased in mango pulp between fruit growth and harvest for both cultivars, indicating the accumulation of this hormone during the second half of fruit development (**Table 1**). This result was coherent with previous studies in climacteric fruits such as tomato (Ruan *et al.*, 2005), peach (Wu *et al.*, 2003) or mango (Zaharah *et al.*, 2012) where ABA plays an important role in fruit ripening (Vendrell and Palomer, 1997). ABA is known to inhibit vegetative bud outgrowth (Shimizu-Sato and Mori, 2001). Moreover, ABA content can be regulated by IAA, as shown in a study where apex decapitation induces a decline of ABA content in stem, and an application of IAA to the apex cut allows recovering an ABA level similar to that before decapitation (Knox and Wareing, 1984). Our results suggested that IAA basipetal flux inhibited lateral bud outgrowth, in a similar way than apical dominance (Smith and Samach, 2013), as shown in previous study (Palni *et al.*, 1988; Booker *et al.*, 2003; Cline and Harrington, 2006; Müller *et al.*, 2015).

Starch, sucrose and glucose varied across phenological stages for flowering and fruiting GUs (Léchaudel *et al.*, 2005; Normand *et al.*, 2006). Starch content was different between the two cultivars but the pattern of change was similar. Important differences between cultivars were evidenced in glucose and sucrose pattern. After the rest period, an increase of starch content in quiescent GUs was revealed for both cultivars (**Figure 3A**). This increase of starch is important since flowering is strongly correlated to starch levels, as shown in *Citrus sinensis* (Goldschmidt *et al.*, 1985) and *Arabidopsis thaliana* (Bernier *et al.*, 1993). Indeed, during the flowering period, flowering GUs had higher starch content than quiescent GUs for both



cultivars, suggesting that GUs with high starch content were prone to flower. Our results showed an accumulation of starch content in GUs before flowering, followed by a decrease between flowering and harvest in all GUs sampled, confirming previous studies in mango (Davie and Stassen, 1997; Davie *et al.*, 2000) and in other fruit species (Hubbard *et al.*, 1991; Marchal and Folliot, 1992). This decrease could be explained by the presence of strong sinks for carbohydrates, i.e., inflorescences and then fruits, that first mobilized local carbohydrates close to them, i.e., in fruiting GUs, and then, imported carbohydrates from other compartments further in the whole tree (Van Vuuren *et al.*, 1997; Normand *et al.*, 2006). However, during fruit growth, high starch content was revealed in fruiting GUs probably due to the more efficient photosynthesis in leaves close to growing fruits (Urban, 2003, 2004). It has been shown in various fruit species, including mango, that the decrease of starch content mainly leads to an increase of sucrose content, and to a lesser extent to an increase of glucose content in fruits (Hubbard *et al.*, 1991). The decrease of starch content at harvest for Cogshall could be responsible for the increase of soluble sugars such as sucrose (**Figure 3B**), glucose (**Figure 3C**) and fructose (data not shown) in Cogshall GUs. Indeed, when metabolism slows down, i.e., fruits are mature, the sink activity slows down, and the source/sink ratio increases, resulting in the increase of soluble sugars. For José, the decrease of starch content was observed from fruit growth, suggesting an early emptying of resources, and therefore a limiting photosynthesis.

Effect of IAA efflux seemed to be predominant on the local carbohydrates depletion, since IAA is produced in inflorescence from flowering, whereas the decrease of starch content appeared at fruit growth and reached a minimum at harvest. On the opposite, IAA content of quiescent GUs was very low, likely explaining why they were able to burst. However, they also had low ZR content, affecting their probability of burst, but to a lesser extent than the negative effect of high IAA content (**Figure 4**).

*Why during the vegetative growth period fruiting GUs had a lower probability of burst, and a delayed bud outgrowth when it appears?*

Our study showed that when inflorescences and/or fruits were no longer present on the GU, after flowering for flowering GUs and during vegetative growth for fruiting GUs, IAA content markedly and rapidly decreased. Fruit removal leads to significant decrease in IAA, sometimes detected after one day in apple and tomato (Gruber and Bangerth, 1990). Moreover, during vegetative growth, an increase of ZR content, although not significant because of the high variability in the data, was observed in all GUs fates, except in quiescent GUs for Cogshall and in fruiting GUs for José (**Figure 2C**). After the rest period for Cogshall, and after flowering for José, ABA content of quiescent GUs dramatically and significantly decreased up to vegetative growth (**Figure 2A**). This important decrease was probably related to both the decrease of abiotic stress, since vegetative growth occurs during the hot and rainy season (**Figure 1A and B**), and to the absence of fruits on trees, which were important sinks of ABA and a source of stress. When fruits were no longer present on tree, the increase of CKs, in addition to the decrease of IAA, suggested that all GUs were potentially able to burst.

During vegetative growth, when the carbohydrates demand slows down, an increase of starch content was observed in quiescent and flowering GUs for both cultivars (**Figure 3A**), although not significant because of the high variability. This increase suggested these GUs used their photosynthates fill in, but slowly, carbohydrates reserve after the depletion of resources for fruits growth (Davie *et al.*, 2000). This slow fill in could be related to the priority of main zones of carbohydrates storage, such as roots (Normand *et al.*, 2006). Starch content of fruiting GUs was lower than in quiescent and flowering GUs, in particular for Cogshall, suggesting a delay to increase starch content in terminal fruiting GUs. However, bud burst is highly dependent on carbohydrates (Zapata *et al.*, 2004). Bud outgrowth depends

on the accumulation of starch content in tissues, such as shoots, and on its capacity to import and use nutrients from the shoot and the roots (Greer *et al.*, 2002; Greer and Wünsche, 2003; Zapata *et al.*, 2004). In *Picea abies*, starch accumulation in buds and shoots is considered as an indication of the onset of lateral bud development (Hejnowicz and Obarska, 1995). In apple tree, a low concentration of total carbohydrates in trees is related to a delayed time and a lower percentage of bud outgrowth (Greer *et al.*, 2002). The low starch content in mango fruiting GUs at vegetative growth probably preventing bud outgrowth and delayed it until a higher starch content is recovered. The starch content of fruiting GUs was still very low in both cultivars, probably delaying bud outgrowth, until carbohydrate reserves refill (Piller *et al.*, 1997; Piller *et al.*, 1998; Zapata *et al.*, 2004).

Although the increase of CKs and to the decrease of IAA, the low starch content of fruiting GUs explained potentially the lower probability of burst, and the later burst when it occurs. At the opposite, quiescent and flowering GUs had larger starch content than fruiting GUs, particularly for Cogshall. Indeed, quiescent and flowering GUs was less impacted by the carbohydrates depletion because they did not bore strong sinks such as fruits, and they had time to restarting carbohydrates in order to burst (**Figure 4**).

#### *Are there any cultivars effects, potentially related to their irregular bearing habit?*

The same changes in ABA and IAA contents were observed for both cultivars. This result could indicate that the different probability of burst of fruiting GUs between Cogshall and José (Capelli *et al.*, 2016) were not explained by these hormones. However, some differences in starch content in GUs at vegetative growth, and in glucose and sucrose patterns at harvest were revealed between the two cultivars. This result suggested that irregular bearing was potentially caused more by carbohydrates availability than by hormones synthesis.

During vegetative growth, quiescent and flowering GUs had higher starch content than fruiting GUs, with a larger gap for Cogshall. Moreover, for Cogshall, an increase of glucose and sucrose contents were observed for all GUs at harvest. At the opposite, the glucose and fructose contents of José GUs were quite low and stable for all GUs during the entire cycle, especially in quiescent GUs. Moreover, a stronger decrease of starch content from flowering was revealed for José quiescent and flowering GUs, suggesting a strong mobilization of local resources for this cultivar. These results suggested that the source/sink ratio of José did not vary at the opposite of Cogshall, translating a lower source of carbohydrates in José GUs, potentially due to less effective photosynthesis.

Low starch reserves at the beginning of a new reproductive season, facilitate an off-year, which is often followed by a high yield the following season, as shown in avocado (Van Vuuren *et al.*, 1997). Starch contents of all José GUs were low at vegetative growth (1.75%MS) reflected probably the local starch content. This starch content can represent an insufficient level few weeks after to induce an important floral induction, causing potentially a weak flowering. The 2014-2015 yield was a high fruit production for the trees used in this experiment. For Cogshall, starch content of quiescent and flowering GUs (3.28%MS) was higher than in fruiting GUs (0.76%MS). At the tree scale, according to the proportion of fruiting GUs vs quiescent and flowering GUs, more or less GUs with sufficient starch content could be present few months later, involving therefore a more or less strong floral induction, reflecting the irregular bearing pattern of Cogshall. However, if lot of fruiting GUs were present one year, less fruiting GUs will be present the following year. Our results suggested that starch content in GUs at vegetative growth are probably involved in the alternate bearing pattern (José) or the irregular bearing pattern (Cogshall) of these two cultivars.



data. This work was funded by the European Union (FEDER fund), the Conseil Régional de la Réunion and the Cirad.

## Bibliography

- Antcliff, A.J. and P. May. 1961. Dormancy and bud burst in Sultana vines. *Vitis* 3: 1–14.
- Bangerth, F. 1992. Polar auxin transport as a signal in the regulation of tree and fruit development. *Acta Hort.* 329: 70-76.
- Bangerth, F. 1994. Response of cytokinin concentration in the xylem exudate of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) to decapitation and auxin treatment and relationship to apical dominance. *Planta*. 194: 439-442.
- Barbier, F., T. Péron, M. Lecerf, M.D. Perez-Garcia, Q. Barrière, J. Rolčík,... and H. Roman. 2015. Sucrose is an early modulator of the key hormonal mechanisms controlling bud outgrowth in *Rosa hybrida*. *J Exp Bot.* erv047.
- Barthélémy, D. and Y. Caraglio. 2007. Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Ann Bot.* 99: 375-407.
- Bernier, G., A. Havelange, C. Houssa, A. Petitjean and P. Lejeune. 1993. Physiological signals that induce flowering. *Plant Cell*. 5: 1147-1155.
- Booker, J., S. Chatfield and O. Leyser. 2003. Auxin acts in xylem-associated or medullary cells to mediate apical dominance. *Plant Cell*. 15: 495-507.
- Capelli, M., P.-É. Lauri and F. Normand. 2016. Deciphering the Costs of Reproduction in Mango–Vegetative Growth Matters. *Front Plant Sci.* 7: 1531.
- Chacko, E., R. Kachru and R.N. Singh. 1970. Changes in the level of acidic and neutral growth promoters during fruit development in Dashehari mango (*Mangifera indica* L.). *J Hortic Sci.* 45: 341-349.
- Chacko, E.K. and T.V. Ananthanarayanan. 1982. Accumulation of reserves substances in *Mangifera indica* L. during flower initiation. *Z Pflanzenphysiol.* 106: 281-285.
- Chacko, E.K. 1986. “Physiology of vegetative and reproductive growth in mango (*Mangifera indica* L.) trees” in *Proceedings of the First Australian Mango Research Workshop* (Cairns, QLD: CSIRO), 54-70.
- Cline, M.G. 1994. The role of hormones in apical dominance. New approaches to an old problem in plant development. *Physiol plant.* 90: 230-237.
- Cline, M.G. and C.A. Harrington. 2006. Apical dominance and apical control in multiple flushing of temperate woody species. *Can J For Res.* 37: 74-83.
- Dambreville, A., P.-É. Lauri, C. Trottier, Y. Guédon and F. Normand. 2013. Deciphering structural and temporal interplays during the architectural development of mango trees. *J Exp Bot.* 64: 2467-2480.
- Davenport, T.L. 2000. Processes influencing floral initiation and bloom: the role of phytohormones in a conceptual flowering model. *Horttechnology.* 10: 733-739.
- Davenport, T.L., D.W. Pearce and S.B. Rood. 2000. Correlation of endogenous gibberellic acid with initiation of mango shoot growth. *J Plant Growth Regul.* 19: 445-452.
- Davie, S.J. and P.J.C. Stassen. 1997. Mango model: starch distribution in different tissues of “Sensation” mango trees of varying ages. *Acta Hort.* 455: 143-150.
- Davie, S. J., P.J.C. Stassen, and H.G. Grove. 2000. Starch reserves in the mango tree. *Acta Hort.* 509: 335-346.
- Davies, P.J. 2010. *The plant hormones: their nature, occurrence, and functions*. Springer Netherlands. 1-15.
- Deyoe, D.R and J.B. Zaerr. 1976. Indole-3-acetic Acid in Douglas Fir Analysis by Gas-Liquid Chromatography and Mass Spectrometry. *Plant Physiol.* 58: 299-303.

- Ferguson, B.J. and C.A. Beveridge. 2009. Roles for auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching. *Plant Physiol.* 149: 1929-1944.
- Friml J. and K. Palme 2002. Polar auxin transport—old questions and new concepts? *Auxin Mol Biol.* 49 : 273-284.
- Gaaliche, B., O. Saddoud and M. Mars. 2012. Morphological and pomological diversity of fig (*Ficus carica* L.) cultivars in northwest of Tunisia. *ISRN Agronomy.* 2012.
- Giday H., D. Fanourakis, K.H. Kjaer, I.S. Fomsgaard and C.O. Ottosen. 2014. Threshold response of stomatal closing ability to leaf abscisic acid concentration during growth. *J Exp Bot* 65: 4361-4370.
- Goldschmidt, E.E., R. Goren, Z. Even-Chen and S. Bittner. 1973. Increase in free and bound abscisic acid during natural and ethylene-induced senescence of citrus fruit peel. *Plant Physiol.* 51: 879-882.
- Goldschmidt, E.E. and A. Golomb. 1982. The carbohydrate balance of alternate-bearing citrus trees and the significance of reserves for flowering and fruiting. *J Am Soc Hortic Sci.* 107: 206-208.
- Goldschmidt, E.E., N. Aschkenazi, Y. Herzano, A.A. Schaffer and S.P. Monselise. 1985. A role for carbohydrate levels in the control of flowering in citrus. *Sci Hort.* 26: 159-166.
- Goldschmidt, E.E. 1999. Carbohydrate supply as a critical factor for citrus fruit development and productivity. *HortScience.* 34: 1020-1024.
- Goldschmidt, E.E. 2013. The evolution of fruit tree productivity: a review. *Econ Bot.* 67: 51-62.
- Goldsmith, M.H.M. 1977. The polar transport of auxin. *Annu Rev Plant Physiol.* 28: 439-478.
- Gomez, L., D. Bancel, E. Rubio and G. Vercambre. 2007. The microplate reader: an efficient tool for the separate enzymatic analysis of sugars in plant tissues-validation of a micro-method. *J Sci Food Agr.* 87: 1893-1905.
- Greer, D.H., J.N. Wünsche and E.A. Halligan. 2002. Influence of postharvest temperatures on leaf gas exchange, carbohydrate reserves and allocations, subsequent budbreak, and fruit yield of 'Braeburn' apple (*Malus domestica*) trees. *N Z J Crop Hortic Sci.* 30: 175-185.
- Greer, D.H. and J.N. Wünsche. 2003. Late-season temperature effects on the carbon economy and tree performance of 'Royal Gala' apple (*Malus domestica*) trees. *N Z J Crop Hortic Sci.* 31: 235-245.
- Gruber, J. and F. Bangerth. 1990. Diffusible IAA and dominance phenomena in fruits of apple and tomato. *Physiol Plant.* 79: 354-358.
- Hallé, F. and R. Martin. 1968. Etude de la croissance rythmique chez l'Hevea (*Hevea brasiliensis* Mull.-Arg. Euphorbiacees-Crotonoidees). *Adansonia.* 8: 475-503.
- Hejnowicz, A. and E. Obarska. 1995. Structure and development of vegetative buds, from the lower crown of *Picea abies*. *Ann For Sci.* 52: 433-447.
- Hendry, N.S., J. Van Staden and P. Allan. 1982. Cytokinins in citrus. II. Fluctuations during growth in juvenile and adult plants. *Sci Hort.* 17: 247-256
- Hoarau, I., T. Michels and D. Vincenot. 2009. Le marché de la mangue. In: Guide de production intégrée de mangue à la Réunion. Vincenot, D. and F. Normand. 39-44.
- Hubbard, N.L., D.M. Pharr and S.C. Huber. 1991. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruits of various species. *Physiol Plant.* 82: 191-196.
- Jarret, R.L., P.M. Hasegawa and H.T. Erickson. 1980. Factors affecting shoot initiation from tuber discs of potato (*Solanum tuberosum*). *Physiol Plant.* 49: 177-184.
- Kawamura, K. and H. Takeda. 2006. Cost and probability of flowering at the shoot level in relation to variability in shoot size within the crown of *Vaccinium hirtum* (Ericaceae). *New Phyto.* 171: 69-80.
- Knox, J. P. and P.F. Wareing. 1984. Apical Dominance in *Phaseolus vulgaris* L. *J Exp Bot.* 35: 239-244.

- Lauri, P.-É. and C. Trottier. 2004. Patterns of size and fate relationships of contiguous organs in the apple (*Malus domestica*) crown. *New Phyto.* 163: 533-546.
- Lee, T.D. 1988. Patterns of fruit and seed production. In: Lovett Doust, J. and L. Lovett Doust L. 1988. *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*. Oxford University Press. 179-202.
- Léchaudel, M., M. Génard, F. Lescourret, L. Urban and M. Jannoyer. 2005. Modeling effects of weather and source–sink relationships on mango fruit growth. *Tree Physiol.* 25: 583-597.
- León, P. and J. Sheen. 2003. Sugar and hormone connections. *Trends Plant Sci.* 8: 110-116.
- Le Roux C., S. Del Prete, S. Boutet-Mercey, F. Perreau, C. Balague, D. Roby, *et al.* 2014. The hnRNP-Q protein LIF2 participates in the plant immune response. *PloS One.* 9: e99343.
- Li, C.-J., E. Guevera, J. Herrera and F. Bangerth. 1995. Effect of apex excision and replacement by 1-naphthylacetic acid on cytokinin concentration and apical dominance in pea plants. *Physiol Plant.* 94: 465-469.
- Marchal, J. and M. Folliot. 1992. Accumulation and utilization of sugars and starch in the aerial parts of clementine trees in Corsica. *Fruits.* 47: 228-240.
- Monselesse, S.P. and E.E. Goldschmidt. 1982. Alternate bearing in fruit trees. *Hortic Rev.* 4: 128-173.
- Müller, D., T. Waldie, K. Miyawaki, J.P. To , C.W. Melnyk, J.J. Kieber, *et al.* 2015. Cytokinin is required for escape but not release from auxin mediated apical dominance. *Plant Journal.* 82: 874-886.
- Nauer, E.M. and S.B. Boswell. 1981. Stimulating growth of quiescent citrus buds with 6-benzylamino purine. *HortScience.* 16: 162-163.
- Normand, F., M. Jannoyer, P. Barantin, G. Damour, M. Dechazal, I. Mialet-Setta *et al.* 2006. Nature, location and seasonal changes of non structural carbohydrates in mango. In: CIRAD–Lavalette, I. *Carbon storage in coconut, oil palm, rubber and mango: origins, dynamics and consequences for plantation management*. Proceedings – Final meeting of ATP-Reserve, 25-38.
- Normand, F., A.K.P. Bello, C. Trottier and P.-É. Lauri. 2009. Is axis position within tree architecture a determinant of axis morphology, branching, flowering and fruiting? An essay in mango. *Ann Bot.* 103: 1325-1336.
- Normand, F., M. Capelli and P.-É Lauri. 2016. The Costs of Reproduction in Plants: a Novel Approach to Study Irregular Bearing of Fruit Crops. *Acta Hort.* 1130: 207-2013.
- Núñez-Elisea, R., M.L. Caldeira and T.L. Davenport. 1990. Thidiazuron effects on growth initiation and expression in mango (*Mangifera indica* L.). *HortScience.* 25: 1167-1168.
- Palni, L.M.S., L. Burch and R. Horgan. 1988. The effect of auxin concentration on cytokinin stability and metabolism. *Planta.* 174: 231-23
- R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ramírez, F. and T. L. Davenport. 2010. Mango (*Mangifera indica* L.) flowering physiology. *Sci Hort.* 126: 65-72.
- Rohla, C.T., M.W. Smith, N.O. Maness and W. Reid. 2007. A Comparison of return bloom and nonstructural carbohydrates, nitrogen, and potassium concentrations in moderate and severe alternate-bearing pecan cultivars. *J Am Soc Hortic Sci.* 132: 172-176.
- Ruan, Y., J.P. Sheng, K.L. Liu and L. Shen. 2005. Relationship between abscisic acid and ethylene in seed and pericarp during tomato ripening. *J Chinese Agri Uni.* 10: 15-19.
- Saidha, T., E.E. Goldschmidt and S.P. Monselesse. 1983. Endogenous growth regulators in tracheal sap of citrus. *HortScience.* (USA).

- Samach A. and H.M. Smith. 2013. Constraints to obtaining consistent annual yields in perennials. II: Environment and fruit load affect induction of flowering. *Plant Science*. 207: 168-176.
- Seo, M. and T. Koshiba. 2002. Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends Plant Sci*. 7: 41-48.
- Shalom, L., S. Samuels, N. Zur, L. Shlizerman, A. Doron-Faigenboim, E. Blumwald and A. Sadka. 2014. Fruit load induces changes in global gene expression and in abscisic acid (ABA) and indole acetic acid (IAA) homeostasis in citrus buds. *J. Exp. Bot.* eru148.
- Shimizu-Sato, S. and H. Mori. 2001. Control of outgrowth and dormancy in axillary buds. *Plant Physiol*. 127: 1405-1413.
- Singh, R. and R.N. Singh. 1969. Lateral bud growth in *Mangifera indica* L. in relation to auxin and inhibitor content of shoots and fruits. *Acta Hort*. 24: 177-186.
- Smith, P.F. 1976. Collapse of 'Murcott' tangerine trees. *J Am Soc Hortic Sci*. 101: 23-25.
- Smith, H.M. and A. Samach. 2013. Constraints to obtaining consistent annual yields in perennial tree crops. I: Heavy fruit load dominates over vegetative growth. *Plant Science*. 207: 158-167.
- Tanaka, M., K. Takei, M. Kojim, H. Sakakibara and H. Mori. 2006. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. *Plant J*. 45: 1028-1036.
- Turnbull, C.G., M.A. Raymond, I.C. Dodd and S.E. Morris. 1997. Rapid increases in cytokinin concentration in lateral buds of chickpea (*Cicer arietinum* L.) during release of apical dominance. *Planta*. 202: 271-276.
- Van Vuuren, B.P.H.J., P.J.C. Stassen and S.J. Davie. 1997. Sink demand for starch reserves in avocado trees. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*. 20: 59-62.
- Vendrell, M. and X. Palomer. 1997. Hormonal control of fruit ripening in climacteric fruits. *Acta Hort*. 463: 325-334.
- Vincenot, D. 2004. *Mangues de La Réunion – origines, histoire, caractéristiques, usages culinaires*. Saint-Denis, France: Océan Editions.
- Waldie, T., A. Hayward and C.A. Beveridge. 2010. Axillary bud outgrowth in herbaceous shoots: how do strigolactones fit into the picture? *Plant Mol Biol*. 73: 27-36.
- Wilson, B.F. 2000. Apical control of branch growth and angle in woody plants. *Am. J. Bot*. 87: 601-607.
- Wolbang, C.M., P.M. Chandler, J.J. Smith and J.J. Ross. 2004. Auxin from the developing inflorescence is required for the biosynthesis of active gibberellins in barley stems. *Plant Physiol*. 134: 769-776.
- Wu, M., K.S. Chen, H.J. Jia, C.J. Xu and S.L. Zhang. 2003. Changes in endogenous abscisic acid, indole-3-acetic acid and ethylene during postharvest ripening period of peach fruit. *International J Fruit Science*. 20: 157-160.
- Wünsche, J.N. and A.N. Lakso. 2000. The relationship between leaf area and light interception by spur and extension shoot leaves and apple orchard productivity. *HortScience*. 35: 1202-1206.
- Zaharah, S.S., Z. Singh, G.M. Symons and J.B. Reid. 2012. Role of brassinosteroids, ethylene, abscisic acid, and indole-3-acetic acid in mango fruit ripening. *Plant Growth Regul*. 31: 363-372.
- Zapata, C., E. Deléens, S. Chaillou, C.C. Magné. 2004. Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *J P Physiol*. 161: 1031-1040.





b) Quantification de l'expression de gènes impliqués dans le débourrement végétatif

En préparation, soumission potentielle au journal *Plant Physiology*

Capelli, M., Barbier, F., Beveridge, C., Lauri, P.-É., and Normand, F. (2017). Changes in Cytokinins and Sucrose Genes Expression Regulate Vegetative Bud Outgrowth in Mango Growth Units. To submit to *Plant Physiology*.

Dans le cadre de mon accueil dans un laboratoire à l'étranger demandé par le cursus EIR-A, nous avons voulu approfondir les hypothèses hormonales et trophiques, à travers une quantification de l'expression de certains gènes potentiellement impliqués dans les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif.

Le but de cette étude est d'analyser les voies de synthèse et de signalisation des hormones et des sucres, grâce à des études de transcriptomique, dans le but d'améliorer notre compréhension des mécanismes en jeu dans les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif. Cependant, ces études de biologie moléculaire étant longues, nous présenterons ici seulement les premiers résultats obtenus. Au cours de mon séjour, j'ai effectué la mise en place l'expérimentation, l'échantillonnage et les extractions de l'ARN à Mareeba. En revanche, la quantification des transcripts a été réalisée au laboratoire de Christine Beveridge par François Barbier. Lorsque les analyses des résultats suivants nous parviendront, ce travail sera valorisé par la suite sous la forme d'un article scientifique avec les collègues Australiens du Queensland, Ian Bally, François Barbier et Christine Beveridge, dont l'ébauche est présentée ci-dessous.

# Changes in Cytokinins and Sucrose Genes Expression Regulate Vegetative Bud Outgrowth in Mango Growth Units.

**Mathilde Capelli<sup>1</sup>, François Barbier<sup>2</sup>, Christine Beveridge<sup>2</sup>, Pierre-Éric Lauri<sup>3</sup> and Frédéric Normand<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>*Cirad, UPR HortSys, 97455 Saint-Pierre Cedex, Reunion Island, France;* <sup>2</sup>*School of Biological Sciences, and The Queensland Alliance for Agriculture and Food Innova; and*

<sup>3</sup>*INRA, UMR System, Campus Montpellier SupAgro, 34060 Montpellier, France*

\* For correspondence. [normand@cirad.fr](mailto:normand@cirad.fr) +262 (0)2 62 96 93 64

## Introduction

Irregular bearing, common in many fruit crops, is defined as an irregular fruit production year after year. It is characterized by years of high fruit production, called ‘on’ years, and by years of low fruit production, called ‘off’ years (Monselise and Goldschmidt, 1982). Several studies have shown that reproduction affects negatively vegetative growth, contributing to induce irregular bearing, in three ways: (1) by inhibiting bud outgrowth when inflorescences or fruits are presents on GUs; (2) by decreasing the probability of bud outgrowth on fruiting GUs; and (3) by delaying bud outgrowth when it appear on fruiting GUs (Dambreville *et al.*, 2013; Capelli *et al.*, 2016).

Two classical hypotheses related to hormones and carbohydrates are generally advanced to explain irregular bearing in fruit trees (Smith and Samach, 2013). The hormonal hypothesis considers that hormones synthetized by the growing fruits inhibit floral induction for the following growing cycle in temperate fruit tree, for which floral induction occurs at the same time than fruit growth (Chan and Cain, 1967). The carbohydrate hypothesis considers that a high fruit load depletes tree carbohydrates reserves (Goldschmidt and Golomb, 1982; Goldschmidt, 1999; Rohla *et al.*, 2007), and low carbohydrates content affect floral induction of the following cycle. At the opposite of temperate fruit trees, floral induction occurs just before flowering in mango (Ramírez and Davenport, 2010). At this moment, there is no growing fruit on the tree since several months and the hormones hypothesis therefore does not hold. However, terminal bearing shoots close to growing fruits do not produce new vegetative flushes as long as the fruit is present. This phenology allows formulating different hypotheses from the classical ones: in mango, there is no direct hormonal effect of the growing fruit on floral induction, but there is a direct hormonal effect of the growing fruit which inhibits or delays vegetative bud outgrowth. The growing fruit produces a basipetal flow of auxin inhibiting lateral buds burst in addition to inhibitin the cytokinins production and the production of strigolactones. The growing fruit is a strong sink for carbohydrates, in particular sucrose. Sucrose is a signal for bud burst and the local depletion of sucrose due to the growing fruit could inhibit bud outgrowth (Rabot *et al.*, 2012; Mason *et al.*, 2014). This reduces subsequent vegetative growth (Capelli *et al.*, 2016) affecting in turn the number of potential flowering points during the following cycle, possibly contributing to irregular bearing.

The aim of this study was to identify which signaling pathways are more likely to be involved in the inhibition of vegetative bud burst by the fruit. We studied the activity of several genes involved in hormone synthesis, perception, or signaling (auxin, cytokinins or strigolactones), sugar signaling, and related to branching. Our specific objectives were to answer the following questions: Which signaling pathways mediate the inhibitory effect of the growing fruit on vegetative bud burst during the following growing cycle? Are these effects cultivar-dependent?

## Materials and methods

### Plant materials and data collection

The study was conducted on two mango cultivars (*Mangifera indica* L.) cultivated in Australia: ‘Kensington Pride’ the main cultivar grown in Australia, characterized by strong irregular bearing in the Northern Australia, and ‘Keitt’ a Floridian cultivar characterized by a regular bearing, the 4<sup>th</sup> most produced in Australia, (Knight *et al.*, 2009; Department of Agriculture and Fisheries, QLD Government, 2015). The orchard was located in the station South Edge in Mareeba, Queensland Australia (16°58'S, 145°20'E).

Vegetative growth occurs through the growth of new shoots, referred to as growth units (GUs), which correspond to the portion of the axis developed during an uninterrupted period of growth (Hallé and Martin, 1968; Barthélémy and Caraglio, 2007). Mango flowering is made up of inflorescences that appear at apical part of the last developed GUs, called terminal GUs. Only some inflorescences set fruits. A terminal GU can therefore have three fates during the reproductive period: it can remain quiescent; i.e., it does not inflorescence or new GU; it can be flowering if it flowers and does not set fruit; and it can be fruiting if it flowers and sets fruits. GUs for RNA extraction were sampled at three dates: at the end of flowering (09/11), at the beginning of fruit growth (09/22) and at the mid fruit growth (10/19). Quiescent GUs were sampled at the 3 dates. Flowering GUs were sampled at the first date, and fruiting GUs at the two last dates. Several parts of the terminal GUs and reproductive organs were sampled. Distal internodes and lateral buds were sampled in all GUs. Apical bud was sampled in quiescent GUs; inflorescence axis was sampled in flowering GUs, and fruit peduncle and embryo were sampled in fruiting GUs.

Five replicates, corresponding to five samples mixed, by dates and fates were sampled. Immediately after sampling, samples were frozen in liquid nitrogen to prevent RNA degradation, and stored at -80°C until grinding and RNA extraction.

### Molecular analyses

Total RNA was extracted as follows. 25-50mg of frozen ground tissues were incubated for 30 min in 650 µL lysis buffer (2% (w/v) CTAB, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA pH 8.0, 100 mM Tris-HCl, pH 8.0, 2% (w/v) PVP40, 5 mM MgCl<sub>2</sub>) and 25 µL of 0.5 mM DTT. 40 µL SDS 10% were added to each sample before being centrifuged at 14.000g for 12 min. Supernatant containing nucleic acid was transferred into a new tube and an equivalent amount of isopropanol was added. Samples were incubated for 30 min at -20 degree before being centrifuged at 14.000g for 60 min. Isopropanol was replaced by ethanol 80% to rinse the

pellet of nucleic acid before being dried on the bench for 15 min and eluted in 60  $\mu$ L of RNase free water. DNA was then removed by eluting the pellet in 175  $\mu$ L of water mixed with 25  $\mu$ L of DNase A + buffer and incubated at 37 degree for 30 min. 10  $\mu$ L of 5M NaCl was added before adding 200  $\mu$ L of isopropanol. Quality of RNA was assessed by electrophoresis and the concentration was determined using a nano-spectrophotometer.

cDNA was obtained by performing a reverse transcription reaction with 200-500 ng of RNA in 8  $\mu$ L of water and 2  $\mu$ L of iScript (Biorad) following manufacturer's instructions.

Q-RT-PCR reactions were performed using 2.5 ng cDNA in 5  $\mu$ L mix with 3  $\mu$ L SYBR Green (Biorad) and 1  $\mu$ L of each primer at 1  $\mu$ M. Amplifications were monitored using a Biorad 384 well thermocycler. Relative fold expression changes were calculated by the comparative Ct method: fold change is calculated as  $PE^{-\Delta\Delta C_t}$  (primer efficiency). The  $\Delta C_t$  values were calculated as the difference between the Ct value (4 - 5 technical replicates) and the Ct value of the geometric mean of three housekeeping genes (MgoMON1, MgoGAPDH and MgoEF1alpha).  $\Delta\Delta C_t$  value is the difference between the  $\Delta C_t$  value of each date and the geometric mean of the  $\Delta C_t$  values of the first date.

Our objective was to understand which genes are involved in the inhibiting effect of fruit growth on vegetative bud outgrowth. We targeted 13 genes of interest related to **auxin**, **cytokinins** and **strigolactones**, these hormones playing positive or negative role in vegetative bud burst, to **sucrose** signaling, to **branching**, and to **dormancy**. : *TAR2* (Auxin synthesis); *IPT5*, *ARR4* and *ARR6* (Cytokinins (CKs) synthesis and signaling); *MAX2* and *D14* (Strigolactones (SLs) perception); *bZIP11*, *bZIP44* and *ASN1* (Sucrose signaling and marker); *BRC1*, *BRC2* and *DRM1* (Branching gene and dormancy markers); *CYCB1* and *GRF2* (Growth markers); *HY5* (Nutrient Signaling). The sequences of these genes were searched on TAIR base (<https://www.arabidopsis.org/>) by their accession number.

## Results

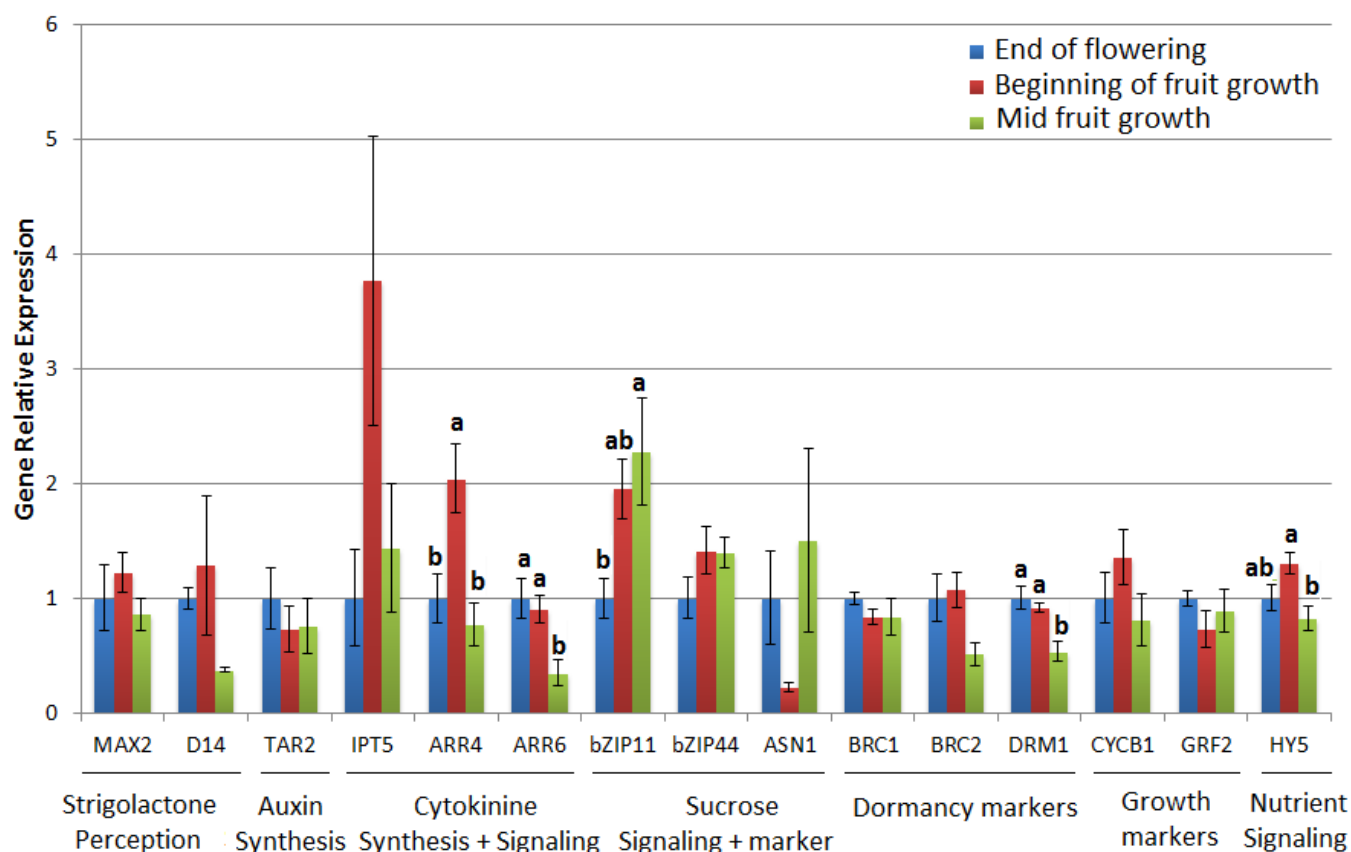
In this dissertation, we presented our first results related to **lateral buds** of **Kensington Pride** quiescent GUs.

Our results revealed several differences in gene expression, depending on the gene and the sampling date (**Figure 1**).

A non-significant decrease of *D14* expression of 63% compared to the end of flowering, and of 91% compared to the beginning of fruit growth, was evidenced at mid fruit growth, corresponding to a decrease of strigolactones perception. A non-significant increase of 277% of cytokinins synthesis expression (*IPT5*), and a significant increase of 104% of cytokinins signaling expression (*ARR4*) were observed at the beginning of fruit growth, suggesting a change of cytokinins synthesis. Moreover, a significant decrease of 65% of *ARR6* expression was revealed at mid fruit growth, suggesting a change of cytokinins signaling.

A non-significant decrease of 77% of *ASN1* expression was evidenced at the beginning of fruit growth, suggesting a decrease of the transcriptional activity of *bZIP11* and potentially an increase of sucrose signaling, since *ASN1* expression is a marker negatively correlated to

sugar signaling. Moreover, a significant increase of the expression of *bZIP11* was observed, marker related to sugar signaling, at the beginning (95%) at mid (127%) fruit growth. *BRC2* and *DRM1* expression, which are dormancy markers, decreased by about one half at mid fruit growth. This decrease was significant for *DRM1* only. A significant decrease of *HY5* was observed at mid fruit growth.



**Figure 1:** Evolution of the expression of different genes of lateral bud of Kensington Pride quiescent growth units, at the three sampling dates: flowering, beginning of fruit growth and mid fruit growth. Lower case letters, when present, indicate significantly different means between sampling dates for the expression of a given gene (analysis of variance followed by Tukey's test,  $P < 0.05$ ,  $n = 5$ ).

## Discussion

The aim of this study was to investigate the mechanisms involved in the inhibiting effect of fruit growth on vegetative bud outgrowth. The current results are on lateral buds of Kensington Pride quiescent GUs. The question was: which signaling pathways mediate the effect of vegetative bud burst?

At the beginning of fruit growth, a significant increase of *ARR4* expression was evidenced, and a marked but non significant of *IPT5*, *ARR6*, *bZIP11* and *HY5* expression, as well as a non significant decrease of *ASN1* expression. The increase of *IPT5* and *ARR4* expression at the beginning of fruit growth corresponded to a change in CK synthesis- and

signaling-related genes. This change could be related to the decrease of *ASN1*. Indeed, the decrease of *ASN1* expression, which is a marker negatively correlated to sucrose signaling, was probably related to the increase of *bZIP11* expression in the bud, related to sugar signaling. This could potentially explain the increase of CK synthesis genes expression (*IPT5*), since the presence of sucrose increases stem cytokinin content (Barbier *et al.*, 2015). Quiescent GUs were potentially able to burst at the beginning of fruit growth since the expression level of CKs genes was high, and the expression level of sugar signaling was high (Davies, 2010).

Expression of *bZIP11* continued to increase between beginning and mid fruit growth. A significant decrease of *ARR4*, *ARR6*, *DRM1* and *HY5* expression was evidenced, as well as a marked but non significant decrease of *D14*, *IPT5* and *BRC2* expression. The decrease of *IPT5*, *ARR4* and *ARR6* at this date suggested a change in CKs expression during the growing fruits period on these GUs which did not bear fruits. The non-significant decrease of *D14* expression, a SLs perception gene, at mid fruit growth could be related to the increase of *bZIP11*, sucrose signaling gene, since sucrose inhibits SLs perception (Barbier *et al.*, 2015; Rameau *et al.*, 2015). The changes in *DRM1* and of *BRC2* expression across the sampling dates suggested a downward change in the dormancy status of the GUs. The decrease of *HY5* expression suggested a downward change in nutrient signaling during the growing fruits period. Quiescent GUs were potentially able to burst at mid fruit growth since the expression level of sugar signaling was high and the dormancy markers were low, suggesting a bud dormancy release (Arora *et al.*, 2003; Mazzitelli *et al.*, 2007).

*TAR2* gene expression, related to IAA synthesis, was regular and weak during the three sampling dates suggesting no change in auxin synthesis. This result potentially explained why these lateral buds did not burst, whereas others markers showed they could. The presence of apical buds in quiescent GUs inhibited lateral bud outgrowth through apical dominance (Wilson 2000). Results on apical buds of quiescent GUs will be interesting to check this hypothesis. Moreover, expressions of *CYCB1*, *GRF2* and *NCED3* were similar between the three sampling dates, suggesting no change in growth marker expression.

Our results highlighted downward changes in cytokinins synthesis and signaling expression, as well as in sucrose signaling, dormancy markers and nutrient signaling expression in bud outgrowth of Kensington Pride quiescent GUs during the reproductive season. Moreover, the regularity in *TAR2* and *MAX2* expression suggested that IAA and SLs were constant during the reproductive season, and potentially inhibited vegetative lateral bud outgrowth of quiescent GUs all over this period (Waldie, 2014).

The next step of this study is to examine gene expression in lateral buds of flowering and fruiting GUs, and in other organs, such as in apical buds, inflorescences and fruits, in order to understand the mechanisms involved in the inhibition of vegetative bud burst.

## Bibliography

- Arora, R., Rowland, L.J., and Tanino, K. (2003). Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age. *HortScience*. 38: 911-921.
- Barbier, F., Péron, T., Lecerf, M., Perez-Garcia, M.D., Barrière, Q., Rolčík, J., *et al.* (2015). Sucrose is an early modulator of the key hormonal mechanisms controlling bud outgrowth in *Rosa hybrida*. *Journal of experimental botany* 66: 47.
- Barthélémy, D., and Caraglio, Y. (2007). Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany*. 99: 375-407.
- Capelli, M., Lauri, P.-É., and Normand, F. (2016). Deciphering the costs of reproduction in mango – vegetative growth matters. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1531.
- Chan, B.G., and Cain, J.C. (1967). The effect of seed formation on subsequent flowering in apple. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 91: 63-67.
- Dambreville, A., Lauri, P.-É., Trottier, C., Guédon, Y., and Normand, F. (2013). Deciphering structural and temporal interplays during the architectural development of mango trees. *Journal of Experimental Botany*. 64: 2467-2480.
- Davies, P.J. (2010). *Plant hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action !* Revised 3<sup>rd</sup> Edition, Ed. Springer, Dordrecht, Germany.
- Department of Agriculture and Fisheries, QLD Government, (2015). <https://www.daf.qld.gov.au/plants/fruit-and-vegetables/fruit-and-nuts/mangoes/mango-varieties>
- Goldschmidt, E.E., and Golomb, A. (1982). The carbohydrate balance of alternate-bearing citrus trees and the significance of reserves for flowering and fruiting. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 107: 206-208.
- Goldschmidt, E.E. (1999). Carbohydrate supply as a critical factor for citrus fruit development and productivity. *HortScience*. 34: 1020-1024.
- Hallé, F., and Martin, R. (1968). Étude de la croissance rythmique chez l'hévéa (*Hevea brasiliensis* Müll. –Arg., Euphorbiacées, Crotonoïdées). *Adansonia*. 8: 475-503.
- Knight, R.J., Campbell, R.J., and Maguire, I. (2009). Important mango cultivars and their descriptors. In : Litz RE, ed. *The Mango: botany, production and uses, 2nd edition*. Wallingford, UK: CABI, 42-66.
- Mason, M.G., Ross, J.J., Babst, B.A., Wienclaw, B.N., and Beveridge, C.A. (2014). Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 111: 6092-6097.
- Mazzitelli, L., Hancock, R.D., Haupt, S., Walker, P.G., Pont, S.D., McNicol, J., *et al.* (2007). Co-ordinated gene expression during phases of dormancy release in raspberry (*Rubus idaeus* L.) buds. *Journal of experimental botany*. 58: 1035-1045.
- Monselise, S.P., and Goldschmidt, E.E. (1982). Alternate bearing in fruit trees. *Horticultural Reviews*. 4: 128-173.
- Rabot, A., Henry, C., Baaziz, K.B., Mortreau, E., Azri, W., Lothier, J., *et al.* (2012). Insight into the role of sugars in bud burst under light in the rose. *Plant and Cell Physiology*. 53: 1068-1082.

- Rameau, C., Bertheloot, J., Leduc, N., Andrieu, B., Foucher, F., and Sakr, S. (2015). Multiple pathways regulate shoot branching. *Frontiers in plant science*. 5: 741.
- Ramírez, F., and Davenport, T.L. (2010). Mango (*Mangifera indica* L.) flowering physiology. *Scientia Horticulturae*. 126: 65-72.
- Rohla, C.T., Smith, M.W., Maness, N.O., and Reid, W. (2007). A Comparison of return bloom and nonstructural carbohydrates, nitrogen, and potassium concentrations in moderate and severe alternate-bearing pecan cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 132: 172-176.
- Smith, H.M., and Samach, A. (2013). Constraints to obtaining consistent annual yields in perennial tree crops. I: Heavy fruit load dominates over vegetative growth. *Plant Science*. 207: 158-167.
- Waldie, T., McCulloch, H., and Leyser, O. (2014). Strigolactones and the control of plant development: lessons from shoot branching. *The Plant Journal*. 79: 607-622.
- Wilson, B.F. (2000). Apical control of branch growth and angle in woody plants. *American Journal of Botany*. 87: 601-607.



## Synthèse des résultats de la section 2. B.

Les résultats des teneurs en hormones et en sucres dans différents organes du manguier (UCs, inflorescences, pulpe et noyau) et à différentes dates, couplés à la bibliographie nous amènent à proposer des mécanismes pour expliquer les différents effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif : l'inhibition, la plus faible probabilité, ou le retard dans le débourrement végétatif des bourgeons latéraux des UCs fructifères :

- Pendant la **reproduction**, les inflorescences et les fruits en croissance produisent de l'auxine, qui affecte négativement le débourrement végétatif, et qui diminue la production de cytokinines. De plus, les fruits, des puits importants de carbone, mobilisent les glucides de tous les axes à proximité pendant la croissance des fruits.

- Pendant la **croissance végétative**, la diminution en amidon affecte négativement le débourrement des UCs reproductrices essentiellement pour Cogshall, et affecte toutes les UCs pour José.

La faible teneur en glucose chez José pendant la croissance des fruits suggère que l'activité photosynthétique est plus faible, et peut potentiellement expliquer la faible teneur en amidon pendant la croissance végétative subséquente.

Ces différences de teneur en glucose et fructose pendant la croissance des fruits, ainsi que dans la disponibilité en amidon pendant la croissance végétative pourrait expliquer les différences de pattern de production irrégulier (Cogshall) et alternant (José) entre les deux cultivars.

L'étude préliminaire de la quantification de l'activité des gènes nous conforte dans l'hypothèse que la synthèse d'auxine par l'apex inhibe le débourrement des bourgeons latéraux. De plus, une diminution de l'expression des gènes liés à la synthèse des cytokinines, ainsi que des gènes liés à la signalisation du saccharose et des nutriments suggèrent, une plus faible probabilité de débourrement végétatif des UCs quiescentes au cours de la croissance des fruits.

Les analyses des résultats suivants sont en cours, et apporteront un éclairage plus fin sur les mécanismes impliqués.

*→ Cette étude a permis de mettre en évidence que des mécanismes hormonaux inhibent le redémarrage végétatif des bourgeons latéraux des UCs fructifères pendant la période de reproduction, et que des mécanismes trophiques réduisent et retardent ce débourrement au moment de la croissance végétative. On peut penser que ces mécanismes participent à la mise en œuvre des coûts retardés de la reproduction chez le manguier. Il existe cependant des différences entre cultivars, potentiellement dû à leur différent pattern de production.*



## **V. Discussion et Perspectives**



---

## V. Discussion et Perspectives

---

L'objectif général de cette thèse est d'apporter un regard nouveau sur l'irrégularité de production de différents cultivars de manguiers, en mobilisant le concept des coûts de la reproduction, et d'identifier des mécanismes clés contribuant à cette irrégularité.

Cette discussion se divise en trois parties :

1. En quoi l'approche des coûts de la reproduction enrichit notre interprétation de l'irrégularité de production ?
2. De quelle manière les mécanismes étudiés au cours de cette thèse participent-ils aux coûts de la reproduction ?
3. Quelles sont les limites de notre étude et les perspectives scientifiques et agronomiques ?

### **1. En quoi l'approche des coûts de la reproduction enrichit notre interprétation de l'irrégularité de production ?**

- A. Le concept des coûts de la reproduction est-il un bon cadre pour analyser l'irrégularité de production des différents cultivars de manguiers ?

Le concept des coûts de la reproduction se réfère généralement à la biologie évolutive. Les coûts de la reproduction observés sur des espèces sauvages résultent de processus évolutifs des espèces en relation avec leur environnement. Le concept des coûts de la reproduction a souvent été utilisé dans les études écologiques, notamment en écologie végétale (Obeso, 2002). Ce concept s'intéresse aux investissements des plantes dans la reproduction sur plusieurs cycles, et il distingue les effets directs (coûts directs) et indirects (coûts retardés) de la reproduction des individus. D'après le principe d'allocation des ressources (Levins, 1968), l'idée principale derrière ce concept des coûts de la reproduction est que l'investissement des individus dans la reproduction affecte leurs autres fonctions principales, à savoir leur croissance et leur défense. Beaucoup de ces travaux mobilisent le concept des coûts de la reproduction chez les espèces dioïques, pour étudier l'effet des coûts de la reproduction, différenciés entre les individus mâles et les individus femelles, sur la croissance végétative (Obeso, 1997) et la survie des individus (Lovett-Doust et Lovett-Doust, 1988).

Dans cette thèse, nous avons mobilisé le concept des coûts de la reproduction dans un cadre agronomique. L'espèce considérée est le manguiers, et les génotypes étudiés, i.e., les différents cultivars, n'ont pas d'histoire évolutive propre puisqu'il s'agit de génotypes sélectionnés par l'Homme sur la base de caractères d'intérêt agronomiques. Dans le cas de ces cultivars de manguiers, il n'y a pas eu de programme d'amélioration et les caractères considérés pour la sélection sont très simples : qualité des fruits, productivité (Campbell et Ledesma, 2015).

Contrairement aux plantes annuelles dont le cycle de vie ne dure qu'un an, le manguiers se développe et produit des fruits sur de nombreuses années. Le concept des coûts de la reproduction fait l'hypothèse qu'une plante pérenne cherche à maximiser son succès reproducteur sur l'ensemble

de sa vie, et non pas à le maximiser sur chaque cycle. La conséquence de cette hypothèse de maximisation est que dans un environnement donné, l'espèce évolue vers une optimisation des interactions entre croissance végétative, reproduction et défense, i.e., une gestion d'allocation des ressources entre ses trois grandes fonctions. Cela doit se traduire par des patterns de régularité de production différents entre les espèces. Le cas horticole est un peu différent car les génotypes n'ont pas d'évolution propre (la sélection est humaine) et ils sont dans des environnements améliorés (à travers des pratiques culturales). Ces pratiques culturales augmentent la disponibilité en ressources, en éléments minéraux grâce à la fertilisation, en eau grâce à l'irrigation, en lumière avec la densité de plantation et la taille, ce qui peut masquer les coûts de la reproduction.

Cependant, malgré toutes ces réserves, les coûts de la reproduction, et notamment les coûts retardés, car les coûts directs qui correspondent aux investissements existent toujours, peuvent être mis en évidence chez des cultivars de manguier, et qu'ils sont en plus corrélés au caractère plus ou moins régulier de la production de ces cultivars au cours du temps. En effet, nos résultats montrent que, dans un contexte agronomique typique qui est celui de l'irrégularité de production, nous avons pu associer la mise en évidence des coûts de la reproduction avec le comportement plus ou moins régulier de la production de quatre cultivars, évalué par le calcul d'indices appropriés (Chapitre IV. 1. B. c ; Capelli *et al.*, 2016). Des coûts de la reproduction élevés, i.e., des relations négatives entre les productions de fruits dans les deux phases reproductives  $R1 \rightarrow R2$ , ou entre la reproduction et la croissance végétative au cours d'un cycle  $R1 \rightarrow V$ , ont été mis en évidence chez les cultivars présentant des variations interannuelles élevées autour de la tendance, avec une structure de ces variations plutôt irrégulières (Cogshall) ou plutôt alternantes (José). De plus, des coûts de la reproduction faibles, i.e., peu ou pas de relations négatives  $R1 \rightarrow R2$  ou  $R1 \rightarrow V$ , ont été mis en évidence chez les cultivars présentant des variations interannuelles faibles autour de la tendance, avec une structure de ces variations plutôt irrégulières (Kensington Pride) ou alternantes (Irwin).

Bien que ces différents cultivars n'aient pas eu une histoire évolutive propre et qu'ils n'étaient pas dans les conditions naturelles dans lesquelles ce concept s'applique généralement, nous avons pu détecter des coûts de la reproduction, qui sont en plus corrélés à leur comportement de production plus ou moins régulier. On peut alors penser que ce concept des coûts de la reproduction peut représenter un cadre d'analyse des interactions fines entre croissance végétative et reproduction non seulement pour les espèces sauvages, mais aussi pour les espèces cultivées voir même pour différents génotypes dans une même espèce. Cependant, au cours de ces études, il est important de prendre en compte les aspects dynamiques des coûts de la reproduction, ainsi que les aspects spatiaux, à savoir à quelle échelle les relations sont étudiées.

## B. Analyses temporelle et spatiale des coûts de la reproduction

Ce concept des coûts de la reproduction apporte des références qui montrent l'importance de considérer les dimensions spatiales et temporelles (Obeso, 2002, 2004) des relations entre reproduction et croissance végétative. Les résultats de nos travaux, dans lesquels nous avons également considéré les dimensions temporelles, en étudiant plusieurs phases phénologiques sur plusieurs cycles de production consécutifs, et spatiales, à plusieurs échelles, de ces relations, vont également dans ce sens-là.

*Analyse temporelle* : Dans cette étude, nous avons analysé le développement des manguiers sur plusieurs cycles de production, puis fais le lien avec le comportement de production plus ou moins irrégulier des cultivars, qui ne peut être analysé que sur plusieurs années (Huff, 2001). Grâce à cette démarche, nous avons pu comprendre et identifier les étapes limitantes dans les successions des phases de reproduction et de croissance végétative. La **probabilité de débourrement** après une phase de reproduction fait partie de ces étapes limitantes, affectant en partie le nombre de pousses et la surface foliaire de ces nouvelles pousses (Capelli *et al.*, 2016). Le débourrement végétatif permet de renouveler la croissance végétative sur l'arbre. Une diminution ou un retard dans le débourrement, qui correspond à la première étape de la mise en place de la nouvelle croissance végétative, peut entraîner des répercussions sur toute la croissance végétative future. Sans nouvelle croissance végétative, il y a une limitation démographique pour la future floraison, i.e., en termes de bourgeons disponibles pour la mise en place des inflorescences, et donc des fruits, et également une limitation des nouvelles structures photosynthétiques (feuilles) permettant un apport de matière organique. Cette probabilité de débourrement végétatif représente donc une phase très importante entre deux phases de reproduction consécutives.

*Analyse spatiale* : Le manguier est composé de plusieurs entités se répétant dans l'architecture de l'arbre (Barthélémy et Caraglio, 2007). L'allocation à la reproduction est souvent étudiée à l'échelle de l'arbre entier, à travers des outils allométriques, contrôlant alors par un processus 'top down' l'allocation à des échelles plus fines. Cependant, d'après Obeso (2004), l'allocation à la reproduction devrait être étudiée en utilisant des processus 'bottom-up' puisque l'investissement de l'arbre dans la reproduction est un processus hiérarchique, qui représente l'intégration des ajustements des investissements à différents niveaux hiérarchiques plus fins. Dans Normand *et al.* (2016) (Chapitre IV. 1. B. a), nous avons travaillé à l'échelle de l'UC, de la branche charpentière et de l'arbre. Nous avons mis en évidence des relations négatives entre la reproduction et la croissance végétative suivante à l'échelle de l'arbre, car nous avons travaillé sur des arbres chargés (n=3) et des arbres non-chargés (n=2). En revanche, dans Capelli *et al.* (2016) (Chapitre IV. 1. B. c), nous n'avons pas pu mettre en évidence des coûts de la reproduction à l'échelle de l'arbre, et peu à l'échelle de la charpentière. Ces différences de résultats entre échelles suggèrent que, même avec une approche 'bottom-up', les conséquences de l'allocation à la reproduction ne sont pas automatiquement détectés à des échelles élevées. En revanche, ces différences de résultats à l'échelle de l'UC ancêtre et de la branche charpentière (Capelli *et al.*, 2016), nous suggèrent qu'il existe des **mécanismes de compensation** des coûts de la reproduction de différentes natures (Tuomi *et al.*, 1983 ; Obeso et Grubb, 1993) chez le manguier.

En effet, différents mécanismes de compensation existent suivant les échelles étudiées. A l'échelle de l'UC, trois mécanismes de compensation peuvent être suggérés : la perte dominance apicale, qui mène à un possible débourrement des bourgeons latéraux ; l'augmentation de la photosynthèse des feuilles proches des fruits en croissance (Urban *et al.*, 2003, 2004) ; et le timing entre les phases de reproduction et de croissance végétative, qui limite la compétition directe pour les ressources. A l'échelle des charpentières, ces mécanismes de compensation pourraient être liés à une probable autonomie partielle (Sprugel *et al.*, 1991 ; Obeso, 2002) des charpentières. En effet, il semble y avoir un échange de ressources entre les charpentières reproductrices et les charpentières non-reproductrices, qui permet d'équilibrer les ressources nutritives et carbonées nécessaires à la

croissance végétative et à la reproduction futures. Cet échange de ressources peut alors masquer les coûts de la reproduction aux échelles plus élevées (Obeso, 1997, 2004).

Ce concept des coûts de la reproduction nous apporte un cadre d'interprétation pour étudier les interactions entre reproduction et croissance végétative, tout en considérant l'évolution de architecturale de l'arbre au cours du temps (Hallé *et al.*, 1978; Lauri *et al.*, 2006 ; Barthélémy et Caraglio, 2007), et d'analyser et de comprendre ces relations à différentes échelles de l'arbre (Lovett Doust et Lovett Doust, 1988 ; Newell, 1991 ; Obeso, 2004). Ces différents résultats nous amènent à mettre en évidence certaines limites de nos études, développées par la suite.

### C. Réflexion sur les notions utilisées dans le cadre des études sur les coûts de la reproduction

Ce volet de la discussion concerne les définitions utilisées dans le cadre des études sur les coûts de la reproduction. Différents termes ont été utilisés au cours du temps pour définir et discuter des coûts de la reproduction. Obeso (2002) en fait un récapitulatif dans son Tableau 1.

#### *Définitions*

D'après Reznick (1985), les coûts de la reproduction sont définis comme « un trade-off dans lequel l'augmentation de la fécondité ou de l'investissement parental entraîne une réduction de la longévité des parents ou une réduction de la capacité pour la reproduction future ». Jönsson (2000), repris par Obeso (2002), définit les coûts de la reproduction en termes « de perte de futur succès reproducteur causé par l'investissement dans la reproduction au cycle  $n$  ». Obeso (2002) évalue les coûts de la reproduction à travers deux points de vue complémentaires : les coûts directs qui correspondent à l'allocation des ressources au moment de la reproduction ; et les coûts indirects ou retardés, qui peuvent être interprétés comme les conséquences de l'investissement des ressources dans le processus de reproduction. Newell (1991) en revanche considère que les coûts directs, définis comme les ressources allouées à la reproduction en cours, **entraînent** les coûts retardés de la reproduction, définis comme les effets délétères de la reproduction au cycle  $n$  sur la croissance, la reproduction et la survie au cycle  $n+1$ .

Ces différentes définitions des coûts de la reproduction prennent bien en compte l'aspect temporel, à savoir les effets de l'investissement de la reproduction au cours d'un cycle, sur les ressources disponibles et les investissements pour les autres fonctions des plantes, i.e., croissance, défense et reproduction, au cours des cycles suivants. Cependant, les définitions des coûts directs et des coûts retardés que mettent en avant Newell (1991) et Obeso (2002) semblent ne pas distinguer les causes et les conséquences de l'investissement dans la reproduction.

La définition des coûts de la reproduction se rapproche de celle des coûts retardés de la reproduction puisque ces deux définitions considèrent les coûts comme des **conséquences** au cycle suivant de l'investissement dans la reproduction au cycle présent. En revanche, la définition des coûts directs de la reproduction considère le coût comme la **cause**, l'investissement à proprement parler dans la reproduction.

#### *Vocabulaire*



Dans le but d'apporter des précisions sur la caractérisation des coûts directs de la reproduction, des termes plus précis pourraient être proposés. Puisque les coûts directs de la reproduction sont causés par les investissements de certaines ressources dans la reproduction, ces coûts pourraient être définis en fonction du type d'investissement, de l'unité de mesure ou de la 'monnaie' (Obeso 2002) alloué de la reproduction. En effet, tous les investissements ont lieu au même moment car ils sont nécessaires à la reproduction. Les expérimentateurs ne mesurent que les coûts caractérisés par une certaine monnaie, qui correspond à un point de vue ou à des hypothèses à tester. L'idée est de compléter la notion de coût direct de la reproduction en caractérisant la monnaie utilisée pour l'investissement qui est mesurée dans les études.

Par exemple, l'unité de mesure considérée peut correspondre à un nombre ou une biomasse de graines ou de fruits (Galen *et al.*, 1993) ; les coûts associés peuvent être définis comme coûts métaboliques de production. L'unité de mesure peut également correspondre au carbone ou à l'azote investi dans la reproduction (Daniels *et al.*, 2013), qui représente une fraction de l'unité précédente ; les coûts peuvent être définis comme coûts glucidiques ou azotés, respectivement. Une autre unité de mesure peut correspondre au nombre de bourgeons mobilisés par la floraison (Watson, 1984). Ces coûts peuvent être définis comme coûts démographiques de bourgeons. Ces unités de mesure sont valables pour quantifier un effort reproducteur (coût direct, ou reproduction au cycle d'après, qui permet d'évaluer la présence, ou non, des coûts retardés), quel que soit l'échelle.

Dans Capelli *et al.* (2015) (Chapitre IV. 1. B. b) sur les effets de la croissance végétative sur la reproduction suivante, l'unité de mesure correspond à des taux de floraison et de fructification. Cependant les résultats ne sont pas très significatifs. En revanche, dans Normand *et al.* (2016) (Chapitre IV. 1. B. a) et dans Capelli *et al.* (2016) (Chapitre IV. 1. B. c) sur les interactions entre reproduction et croissance végétative, nous avons utilisés comme unité de mesure le nombre de fruits, normalisée à la taille de la charpentièrre, ou à la taille du tronc. Il semble que cette unité normalisée corresponde mieux à notre cas d'étude puisque les résultats sont plus significatifs. La normalisation des unités de mesure à l'échelle de la charpentièrre ou de l'arbre, qui rend indépendant la taille des charpentièrres ou des arbres, pourrait permettre de mettre davantage en évidence les coûts de la reproduction.

Ces différences en termes d'unité de mesure pourraient permettre de mieux cibler le type d'investissement de la reproduction, pour ensuite mieux cibler les conséquences spécifiques de ces investissements sur la croissance végétative et la reproduction suivante.

## **2. De quelle manière les mécanismes étudiés au cours de cette thèse participent-ils aux coûts de la reproduction ?**

Notre étude sur les relations entre reproduction et croissance végétative a permis de mettre en évidence une étape limitante dans la succession de phases entre reproduction et croissance végétative, qui correspond au **débourrement végétatif** (Capelli *et al.*, 2016). Des études précédentes ont montré que le caractère reproducteur d'une UC diminue sa probabilité de débourrement, et que lorsqu'il y a débourrement, ce dernier est plus tardif (Issarakraisila *et al.*, 1997 ; Muhammad *et al.*, 1999 ; Dambreville *et al.*, 2013). La floraison et la croissance des fruits affectent donc négativement

le débourrement végétatif de trois manières : (1) lorsque les inflorescences et les fruits sont présents sur les UCs porteuses, il y a **inhibition** du débourrement végétatif des bourgeons latéraux de l'UC porteuse ; (2) lorsque les inflorescences et les fruits ne sont plus présents, il y a **diminution** de la probabilité du débourrement végétatif sur les UCs porteuses par rapport à des UCs restées quiescentes ; et (3) lorsque le débourrement végétatif a lieu, il y a **retard** de ce débourrement végétatif à l'échelle de l'UC porteuse par rapport à des UCs restées quiescentes. Ces effets négatifs sur le débourrement végétatif diminuent, ou retardent, la croissance végétative qui limite le nombre de bourgeons disponibles pour la floraison suivante, et diminue la probabilité de floraison suivante.

Ces points qui étaient nos hypothèses de départ ont été vérifiés. Nous avons ainsi pu orienter nos recherches concernant les mécanismes pouvant contribuer à ces effets négatifs et retardés de la reproduction sur la croissance végétative et la reproduction suivante. Ces effets négatifs peuvent potentiellement être impliqués dans l'irrégularité de production.

Nous avons donc décidé d'étudier les effets de la reproduction qui inhibent ou retardent le débourrement végétatif, à l'échelle de l'unité de croissance, de manière dynamique, et sur des cultivars avec des patterns de production différents. Nous avons ainsi voulu savoir quels mécanismes étaient impliqués dans ces effets négatifs, et de quelle manière ils participaient aux coûts directs ou retardés de la reproduction.

#### A. Les évolutions des teneurs en hormones et en sucres des UCs fructifères sont potentiellement impliquées dans les coûts retardés de la reproduction

L'étude de la reproduction sur la dynamique des teneurs de certaines hormones et de certains sucres dans les unités de croissance et à différentes phases du cycle de production du manguiier (Chapitre IV. 2. B), nous a permis d'émettre des hypothèses et d'améliorer notre compréhension des mécanismes sous-jacents potentiellement impliqués dans les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif des UCs (Capelli *et al.*, 2016 ; Dambreville *et al.*, 2013). Nous avons également mis en évidence des mécanismes propres à certains cultivars.

Le développement d'une inflorescence puis d'un fruit engendre une synthèse importante d'auxine qui est évacuée vers l'UC porteuse et la plante via des flux basipètes (Wolbang *et al.*, 2004). Cela a pour conséquence une augmentation de la présence de cette hormone dans l'UC porteuse. Les flux d'auxine par les organes reproducteurs affectent le débourrement végétatif et l'inhibition de ses bourgeons latéraux (Smith and Samach, 2013). De plus, on peut penser que des teneurs élevées d'auxine inhibent la synthèse locale des cytokinines, qui favorisent le débourrement des bourgeons (Ferguson and Beveridge, 2009).

Pour fleurir, une teneur en amidon élevée dans la pousse est requise (Goldschmidt *et al.*, 1985). Nos résultats vont dans ce sens puisque les UCs florifères possèdent une teneur en amidon plus élevée que les UCs restées quiescentes. La floraison survient donc sur des UCs possédant une teneur en amidon élevée. Pendant la croissance des fruits, la teneur en amidon diminue localement dans toutes les UCs. On peut penser que cette diminution est liée à la mobilisation des glucides pour les fruits en croissance, qui représentent des puits de glucides (Léchaudel *et al.*, 2005). Une augmentation des sucres solubles à ce moment-là est observée dans toutes les UCs chez Cogshall. En effet, les fruits étant matures, et ayant utilisés une grande partie des réserves en amidon de l'arbre, la photosynthèse est stimulée pour produire des sucres solubles (Urban *et al.*, 2004).

Cette étude des mécanismes hormonaux et trophiques nous permet également de mettre en évidence des différences spatiales et temporelles des effets de la reproduction sur la croissance végétative. En effet, la production d'auxine par les inflorescences et les fruits en croissance se déroulent pendant la croissance des fruits. Lorsque les fruits ne sont plus présents sur l'arbre, le flux basipète d'auxine dans les UCs porteuses, responsable de l'inhibition de leur débourrement végétatif, s'arrête. En revanche, les teneurs en amidon des UCs porteuses diminuent en lien avec la croissance des fruits, puis restent faibles au moins jusqu'à la croissance végétative. Or une certaine disponibilité locale des glucides est nécessaire pour le débourrement végétatif (Zapata *et al.*, 2004), les autres conditions (eau, température...) n'étant pas limitantes. Cette mobilisation d'amidon par les fruits en croissance affecte ainsi négativement le débourrement végétatif. Même lorsque les fruits ne sont plus sur l'arbre, les teneurs en amidon restent faibles, puisque leur temps de reconstitution est long (Kozłowski, 1992b ; Piller et Meekings, 1997 ; Piller *et al.*, 1998), retardant alors le débourrement végétatif des UCs, en particulier les UCs fructifères.

Il semble donc y avoir un **décalage temporel** entre ces mécanismes, à savoir les mécanismes hormonaux surviennent en premier dès le développement de l'inflorescence, source d'auxine, et jusqu'au retrait du fruit à la récolte. Il n'y a pas d'effet à plus long terme car la source d'auxine n'est plus présente. Par contre, la teneur en amidon dans les UCs fructifères diminue de façon marquée dans la seconde partie de la croissance du fruit, et atteint un minimum à la récolte. La reconstitution de ces réserves locales en amidon n'est pas rapide (Kozłowski, 1992b), ce qui entraîne un effet négatif à plus long terme. Les mécanismes hormonaux auraient donc seulement un rôle sur l'inhibition du débourrement végétatif en présence d'une inflorescence ou d'un fruit, tandis que les mécanismes trophiques auraient un effet à la fois sur la probabilité plus faible de démarrage du débourrement végétatif après la récolte, et sur le retard de ce débourrement lorsqu'il a lieu.

L'étude de quantification de l'expression des gènes correspond à l'analyse de l'expression de certains gènes liés aux hormones et aux glucides pouvant potentiellement expliquer les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif (Chapitre IV. 2. B. b). Les premiers résultats de cette étude mettent en évidence des changements dans l'expression de certains gènes dans les bourgeons latéraux des UCs quiescentes au cours de la période de croissance des fruits. Ces gènes sont liés à la synthèse et à la signalisation des cytokinines (*IPT5*, *ARR4* et *ARR6*), ainsi qu'à la signalisation du saccharose (*bZIP11*), des nutriments (*HY5*), et des marqueurs de dormance (*BRC2* et *DRM1*). Ces premiers résultats confortent nos résultats précédents des mécanismes hormonaux et trophiques (Chapitre IV. 2. B. a) puisque des changements dans les teneurs en cytokinines, en amidon et en glucose ont été mis en évidence dans les UCs quiescentes au cours du temps, particulièrement au cours de la croissance des fruits. L'analyse de la suite des résultats, sur les bourgeons latéraux des UCs fructifères et sur les bourgeons apicaux des UCs quiescentes, ainsi que dans les fruits, nous permettra de compléter notre compréhension des mécanismes impliqués dans les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement végétatif.

Ces études nous ont permis d'améliorer notre compréhension des effets négatifs de la reproduction sur la croissance végétative, identifiant ainsi des facteurs hormonaux et trophiques clés qui peuvent potentiellement contribuer à l'irrégularité de production chez le manguier à l'échelle de l'UC.

## B. Les modifications anatomiques liées à la croissance des fruits peuvent être considérées comme des coûts directs de la reproduction

L'étude de la reproduction sur la morphologie, l'anatomie et les caractéristiques hydrauliques des UCs porteuses (Chapitre IV. 2. A) nous a permis de mettre en évidence que la mise en place de la reproduction (inflorescences puis fruits) entraîne des modifications anatomiques, morphologiques et hydrauliques de l'axe porteur, avec des différences marquées entre les deux cultivars étudiés Cogshall et José. La croissance d'un fruit engendre une croissance secondaire de l'UC porteuse, i.e., une augmentation de son diamètre, liée à l'augmentation du phloème chez les deux cultivars pour alimenter le fruit. De plus, pour Cogshall, à l'inverse de José, la reproduction entraîne également une augmentation du sclérenchyme et du xylème. Ces augmentations permettent aux UCs reproductrices de soutenir le poids du fruit, et également d'augmenter leur conductivité hydraulique pendant la croissance des fruits, permettant ainsi l'alimentation en eau du fruit. Ces modifications anatomiques, i.e. du diamètre, et morphologiques, i.e., du phloème pour les deux cultivars, et du sclérenchyme et du xylème pour Cogshall, peuvent être considérées comme des coûts directs de la reproduction. En effet, ces modifications correspondent à des conséquences de la reproduction entraînant des investissements métaboliques puisque l'UC investit de l'énergie pour permettre le développement du phloème, du xylème et du sclérenchyme. Ces coûts sont liés au développement des fruits mais pas à la floraison.

Une diminution de cette conductivité hydraulique a été observée chez Cogshall après la récolte des fruits, probablement liée à une occlusion des vaisseaux de xylème. On peut alors se demander si cette diminution de conductivité hydraulique dans les UCs reproductrices de Cogshall contribue aux coûts retardés de la reproduction. En effet, cette diminution de la conductivité hydraulique des UCs qui ont fructifiées de Cogshall au moment de la période de croissance végétative peut affecter le débourrement végétatif et l'élongation de nouvelles UCs, puisque ces phénomènes nécessitent de l'eau (Essiamah et Eschrich, 1986 ; Améglio, 1994). Le débourrement végétatif des bourgeons latéraux des UCs ayant fructifiées peut être alors affecté par cette diminution d'apport en eau. L'effet négatif de la reproduction sur la croissance végétative suivante pourrait donc avoir des causes hydrauliques, liées à une occlusion des vaisseaux de xylème des UCs fructifères qui diminue la conductivité hydraulique et pourrait affecter le débourrement végétatif suivant.

Nous avons montré que des mécanismes hormonaux et trophiques sont possiblement impliqués dans l'irrégularité de production du manguier, au moins à un niveau d'étude original qui correspond aux relations entre reproduction et croissance végétative suivante ( $R \rightarrow V$ ). De façon plus originale, nous avons avancé l'hypothèse d'une possible implication de dysfonctionnements hydrauliques dans les UCs fructifères porteuses, que l'on trouve au moins chez un cultivar, Cogshall.

## C. Effet cultivar

La combinaison des trois mécanismes, hormonaux, trophiques et hydrauliques peut être considérée comme étant impliquée dans les effets négatifs de la reproduction sur la croissance végétative. Ces trois mécanismes engendrent des effets qui peuvent être similaires au deux cultivars étudiés, mais également des effets différents entre les cultivars.

Effets similaires entre les cultivars : Les évolutions ainsi que les teneurs en hormones étaient relativement identiques entre les cultivars (Chapitre IV. 2. B). Une diminution très importante des teneurs en acide abscissique est observée pour toutes les UCs, passant de teneur proche de 15000 ng.g<sup>-1</sup> pendant la période de repos à des valeurs proches de 10 ng.g<sup>-1</sup> au moment de la croissance végétative. Des teneurs en auxine élevées ont été observées sur les UCs portant des inflorescences et des fruits chez les deux cultivars (aux alentours de 80 ng.g<sup>-1</sup>). Les UCs quiescentes, ou les UCs reproductrices ne possédant plus leur organe reproducteur, possédaient des teneurs en auxine sous le seuil de quantification chez les deux cultivars. L'évolution de la zéatine-riboside était quelque peu différent entre Cogshall et José, notamment pour les UCs quiescentes et les UCs fructifères, mais leurs teneurs étaient proches.

Les évolutions et les teneurs en amidon étaient également relativement identiques entre les deux cultivars (Chapitre IV. 2. B). Des teneurs plus élevées dans les UCs florifères que dans les UCs quiescentes pendant la floraison ont été observées chez les deux cultivars. De plus, la diminution des teneurs en amidons dans toutes les UCs au moment de la récolte, puis l'augmentation plus ou moins importante pendant la croissance végétative, a été observée chez les deux cultivars.

Les modifications morphologique, i.e., augmentation du diamètre, et anatomiques, i.e., augmentation du phloème, des UCs entraînées par la fructification, sont également identiques chez les deux cultivars (Chapitre IV. 2. A).

Effets différents entre les cultivars : En revanche, au cours de l'étude de l'évolution des sucres (Chapitre IV. 2. B), nous avons mis en évidence des différences entre les deux cultivars dans la dynamique des sucres solubles, et dans les teneurs en amidon au moment de la croissance végétative. En effet, chez Cogshall, des pics de production de glucose et de fructose sont observés pendant la récolte pour toutes les UCs, alors que chez José, les teneurs en glucose et fructose évoluent très peu au cours du temps. Ces différences suggèrent que chez José, les ressources se vident plus tôt, et que la photosynthèse est limitée. De plus, on peut penser que les différences de teneur en amidon dans les UCs pendant la croissance végétative sont probablement liées au pattern de production des deux cultivars (alternant chez José et irrégulier chez Cogshall).

Au cours de l'étude des effets de la reproduction sur l'anatomie des UCs porteuses (Chapitre IV. 2. A), nous avons mis en évidence que le cambium fonctionne différemment suivant l'organe se développant à l'extrémité de l'UC. Si l'UC porte une nouvelle UC, le cambium produit préférentiellement du xylème, avec des vaisseaux plus gros, et ce pour les deux cultivars. En revanche, si l'UC porte une inflorescence puis un fruit, le cambium produit préférentiellement du phloème pour les deux cultivars, mais également du xylème pour Cogshall. Cet accroissement du xylème dans les UCs reproductrices de Cogshall a lieu après la floraison. On peut penser que cette augmentation de xylème permet à l'UC d'une part de répondre à la demande en eau du fruit en croissance, et d'autre part soutenir le poids du fruit puisque le xylème possède également un rôle de tissu de soutien. Chez José, un comportement différent est observé. Au moment de la floraison, les UCs florifères de José possèdent une densité de vaisseaux dans le xylème qui est plus importante que celles des UCs quiescentes. Ce caractère semble préexistant à la floraison chez José. On peut penser que les UCs possédant une grande densité de vaisseaux, et donc avec une meilleure conductance hydraulique, ont une probabilité de fleurir plus importante. On peut alors se demander quelle est la raison de la présence d'UCs avec des densités de vaisseaux xylémiens différents chez José avant la floraison, et quels facteurs conduisent à ces différences.

De plus, une conductivité plus importante est observée chez Cogshall que chez José, en accord avec des résultats précédents (Normand *et al.*, 2008). Des différences d'évolution de la conductivité hydraulique ont également été observées après la récolte entre Cogshall et José. Une diminution de la conductivité hydraulique des UCs fructifères est également observée seulement chez Cogshall.

Ces études sur les différents mécanismes, ainsi que les calculs d'indice d'irrégularité de production et l'analyse des coûts de la reproduction (Capelli *et al.*, 2016), nous permettent donc de mettre en évidence des différences variétales marquées, notamment entre Cogshall et José (**Tableau 8**).

**Tableau 8** : Effets de la reproduction, durant et après la période de reproduction, sur l'unité de croissance (UC) porteuse. En rouge figurent les effets observés seulement sur Cogshall et en noir les effets observés sur les deux cultivars.

<i><b>Effets durant la période de reproduction</b></i>	<i><b>Effets après la période de reproduction</b></i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Augmentation du diamètre</li> <li>- Augmentation du phloème</li> <li>- <b>Augmentation du xylème</b></li> <li>- <b>Augmentation du sclérenchyme</b></li> <li>- Augmentation de la conductivité hydraulique</li> <li>- Teneur élevée en auxine</li> <li>- Diminution de la teneur amidon</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Diminution de la conductivité hydraulique</b></li> <li>- Teneur en amidon faible</li> </ul>

L'évolution des teneurs en hormones est identique au cours du temps entre les deux cultivars étudiés, en revanche des différences dans l'évolution des teneurs en sucres et dans les caractéristiques anatomiques et hydrauliques des UCs porteuses ont été observées entre Cogshall et José. Il semble que la reproduction entraîne des effets sur la croissance végétative de différente manière entre Cogshall et José. Ceci pourrait suggérer que les mécanismes impliqués dans ces effets sont propres à chaque cultivar, et qu'ils contribuent en partie à expliquer leurs patterns de régularité de production. Pour pouvoir valider cette hypothèse, des perspectives de ce travail sont données dans la partie suivante.

### **3. Quelles sont les limites et perspectives scientifiques et agronomiques suite à ces travaux ?**

A. Limites et perspectives de recherche – quelles futures recherches pour approfondir ces travaux sur l'irrégularité de production ?

a) *Les coûts de la reproduction et l'irrégularité de production*

Nos études sur l'irrégularité de production des manguiers, à travers la mobilisation des coûts de la reproduction, contiennent quelques limites que nous allons exposer ci-dessous, nous amenant à proposer certaines perspectives de recherche en vue d'améliorer nos connaissances et notre compréhension sur l'irrégularité de production du manguiers.

Les cultivars de manguiers résultent d'une sélection effectuée par l'Homme, à l'inverse de la sélection naturelle. Un des objectifs de cette sélection est de favoriser la production, en sélectionnant des arbres à fort potentiel de production puis en les multipliant végétativement, mais également de favoriser la qualité des fruits. Ceci est particulièrement vrai dans le cas du manguiers, e.g. les variétés Floridiennes. On peut alors se demander si cette sélection humaine représente une limite à l'utilisation des coûts de la reproduction dans le cadre des études sur les espèces fruitières dans un contexte agronomique. En effet, en milieu naturel, les ressources sont limitées ; les coûts de la reproduction sont donc facilement observables puisque les plantes disposent de moins de ressources à allouer aux trois principales fonctions qui permettent leur développement, leur survie et leur reproduction. Cependant dans notre étude, les arbres étaient présents dans des parcelles disposant d'une irrigation ainsi que d'un apport d'engrais minéraux. Les ressources dans ces parcelles sont donc moins limitantes qu'en milieu naturel, pouvant ainsi masquer les coûts de la reproduction (Horvitz et Schemske, 1988). D'après Tuomi (1983), les coûts de la reproduction peuvent être observables lorsque les ressources sont très faibles, ou lorsque les investissements dans la reproduction sont très importants. Or dans le cadre de la sélection humaine du manguiers, les objectifs sont de sélectionner des cultivars très productifs, ou des cultivars produisant des fruits de bonne qualité, engendrant des cultivars qui investissent beaucoup dans la reproduction. On peut alors penser que, malgré cette sélection humaine, les coûts de la reproduction peuvent être tout de même observables sur des espèces agronomiques telles que le manguiers.

Tous les cultivars ont subi les mêmes conditions environnementales dans notre étude. Or on sait par exemple que Kensington Pride est très irrégulier dans le Nord de l'Australie, et plus régulier dans des latitudes plus hautes (communication personnelle de Ian Bally, QDAFF). On peut penser que ce phénomène d'irrégularité de production est également entretenu par les conditions environnementales. Des études sur les mêmes cultivars, mais présents dans des zones géographiques différentes, ou dans des conditions climatiques différentes, avec des pratiques culturales identiques, pourraient être envisageables, dans le but d'analyser comment ces conditions environnementales peuvent affecter l'irrégularité de production chez le manguiers.

Une limite de notre étude a été de ne pas considérer l'impact de la reproduction sur la fonction de défense du manguiers. En effet, dans cette thèse nous avons mobilisé le concept des coûts de la reproduction comme cadre de réflexion pour comprendre comment la reproduction du manguiers affecte sa croissance végétative, affectant ainsi la reproduction suivante. Cependant, d'après le Principe d'Allocation (Levins, 1968), trois grandes fonctions se partagent les ressources : la reproduction, la croissance et la défense contre les contraintes abiotiques et biotiques. On aurait pu se demander si les coûts de la reproduction affectent la défense du manguiers, et comment cela impacte la reproduction au cycle suivant. Nous n'avons pas considéré la défense chez le manguiers pour plusieurs raisons. Plusieurs mécanismes sont impliqués dans la défense, il aurait été difficile de les quantifier et d'en avoir une vue d'ensemble, alors que la croissance végétative peut être facilement quantifiable. De plus, les conséquences d'une moindre allocation de ressources vers la

défense sont aussi très diverses et difficile à appréhender (biotiques, abiotiques...). On peut penser à des analyses quantitatives de production de latex ou d'autres exsudats, qui jouent un rôle dans la défense contre les insectes et les herbivores (Konno, 2011), qui pourraient permettre d'étudier les effets de la reproduction sur les capacités de défense des arbres, affectant potentiellement la reproduction suivante ou la survie des individus.

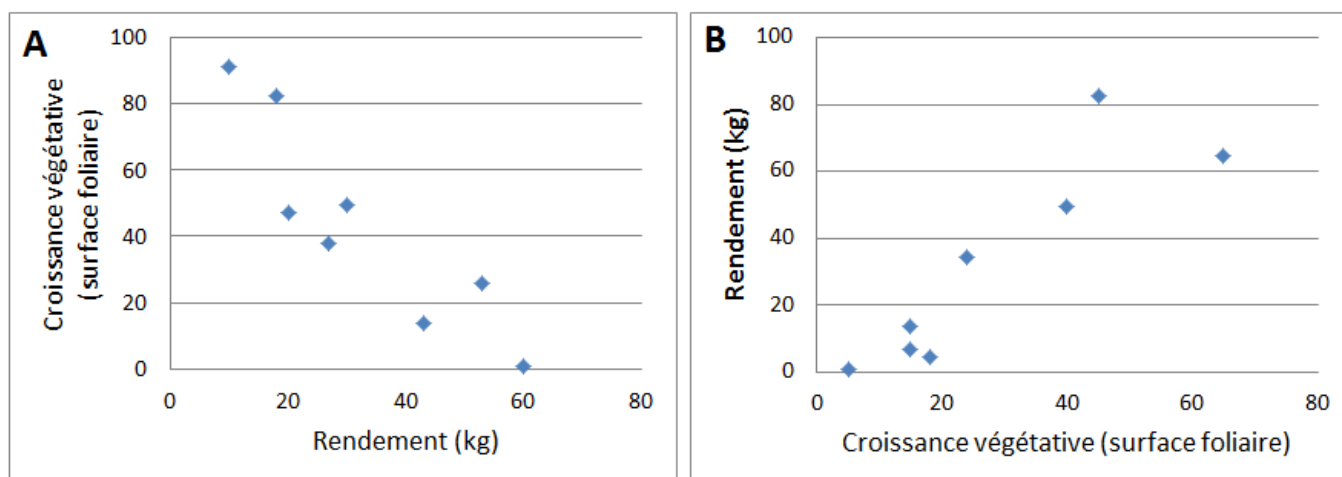
Nous avons vu précédemment que les dimensions **spatiales** et **temporelles** sont très importantes à prendre en compte dans les études sur les coûts de la reproduction.

Dans notre étude sur l'irrégularité de production (Chapitre IV. 1. A), nous mettons en évidence des différences de patterns de production entre les cultivars, à l'échelle de l'arbre, avec un effet arbre très marqué. En revanche, dans notre étude sur les coûts de la reproduction (Chapitre IV. 1. B. c ; Capelli *et al.*, 2016) des résultats ont été mis en évidence aux échelles de l'UC et de la charpentière, mais pas à l'échelle de l'arbre (que nous n'avons donc pas présentés dans l'article). Nous avons seulement 3 arbres chargés, donc statistiquement il était difficile d'obtenir des résultats intéressants.

En revanche, nos études préliminaires des interactions entre reproduction (R) et croissance végétative (V), à savoir les relations de  $R \rightarrow V$  (Chapitre IV. 1. B. a) et de  $V \rightarrow R$  (Chapitre IV. 1. B. b) ont été effectuées à plusieurs échelles, dont l'échelle de l'arbre, et ont mis en évidence des effets négatifs de la charge en fruits sur la surface foliaire des nouvelles UCs produites, et des effets négatifs du nombre d'UCs terminales produites sur le taux de floraison et de fructification à l'échelle de l'arbre, avec en revanche des différences entre cultivars. Pour mettre en lien les coûts de la reproduction et l'irrégularité de production, il est très important de prendre en compte l'étude à l'échelle arbre.

Pour lever ces limites spatiales et temporelles des études sur les coûts de la reproduction, il faudrait étudier les effets de la production de fruits sur la production de biomasse végétative ( $R1 \rightarrow V$ ) ainsi que les effets de la production de biomasse végétative sur la production de fruits ( $V \rightarrow R2$ ), de la même manière que dans Capelli *et al.* (2016) à l'échelle de l'arbre (**Figure 26**). Les données de rendements correspondent au nombre ou au poids de fruits relevés chaque année et pour chaque arbre. Pour les données de croissance végétative, des outils allométriques permettent de mesurer ces données végétatives rapidement, et de manière non destructive, chaque année et pour chaque cultivar. Par exemple des mesures de diamètres à la base de la 1<sup>ère</sup> UC de chaque axe mise en place permettraient d'obtenir la quantité de surface foliaire portée par cette UC (Shinozaki, 1964a, b ; Normand et Lauri, 2012).





**Figure 26 :** Exemples théoriques des relations entre les rendements en fruits (kg) et la croissance végétative (surface foliaire) (A) et entre la croissance végétative et le rendement (B) sur huit arbres de Cogshall. Les données sont fictives.

La corrélation entre les deux variables nous permettrait de vérifier si la croissance végétative joue bien un rôle dans les successions de rendements au cours du temps à l'échelle de l'arbre. Si la corrélation entre la reproduction et la croissance végétative est proche -1 (**Figure 26.A**), et que la corrélation entre la croissance végétative et la reproduction est proche de 1 (**Figure 26.B**), cela signifie que la croissance végétative joue bien un rôle important entre les phases de reproduction. Si en revanche, les corrélations sont proches de 0, ce signifie que d'autres facteurs peuvent affecter les rendements une année sur l'autre. L'étude de ces relations à l'échelle de l'arbre, avec un nombre de répétition important ( $n > 5$  par exemple) pourrait être liée avec les études sur l'irrégularité de production des arbres, dans le but de comprendre si l'irrégularité de production est bien due à un effet négatif de la reproduction sur la croissance végétative, ou si c'est lié à d'autres facteurs.

Nos études préliminaires ont été réalisées sur un ou deux cycles de production. Puisque l'irrégularité de production doit être étudiée sur au moins 6 années de production consécutives (Huff, 2001) il faudrait étudier les coûts de la reproduction sur autant d'années, pour pouvoir par la suite lier la détection des coûts de la reproduction aux patterns d'irrégularité de production des cultivars. Cependant, l'acquisition des données de croissance végétative (comme effectuée pour la base de données Doralice, Chapitre III. 2. B. a) sont très longues, et difficilement réalisable sur de nombreux cycles, en comparaison à des données de rendement.

Les analyses des coûts de la reproduction à différentes échelles nous ont apporté des résultats intéressants dans le cadre de notre étude sur le manguiier, principalement sur les mécanismes de compensation à ces différentes échelles et sur l'autonomie partielle (Tuomi *et al.*, 1983 ; Sprugel *et al.*, 1991 ; Obeso et Grubb, 1993 ; Obeso, 2002). Il serait intéressant d'approfondir nos connaissances sur ces phénomènes de compensation. En comparant les coûts de la reproduction aux échelles de l'UC, de la charpentière et de l'arbre comme proposé précédemment, nous pourrions améliorer notre compréhension dans ces phénomènes de compensation chez le manguiier. De plus, une étude de ces mécanismes de compensation sur des cultivars présentant différents patterns d'irrégularité de production pourrait apporter des pistes pour la régulation agronomique de la production. En effet, cette connaissance peut permettre de mieux comprendre comment, et à quel(s) niveau(x), les coûts

sont régulés chez le manguier, et de proposer des marqueurs ou des traits pertinents pour la sélection de cultivars plus réguliers.

*b) Evolutions des teneurs en hormones et en sucres dans les bourgeons latéraux des UCs fructifères*

L'étude de la dynamique des dosages d'hormones et de sucres (Chapitre IV. 2. B), nous permet de mettre en évidence l'effet de certaines hormones, notamment l'auxine, potentiellement responsable de l'inhibition du débourrement végétatif, ainsi que le rôle de l'amidon dans la faible probabilité et le retard de ce débourrement. Cependant, les dosages des hormones et des sucres ont été effectués dans l'axe des UCs. On peut penser que de nouveaux dosages au niveau des bourgeons apicaux dans le cas des UCs quiescentes, et au niveau des bourgeons latéraux dans le cas des UCs reproductrices, pourraient être réalisés, comme nous avons fait dans l'étude sur la quantification de l'expression des gènes. Cela permettrait d'étudier de manière précise quels sont les hormones potentiellement impliqués dans les effets négatifs de la reproduction sur le débourrement bourgeons végétatifs. Nous pourrions alors approfondir nos connaissances sur les effets des hormones et des sucres sur la reproduction et le débourrement végétatif du manguier.

*c) Les modifications anatomiques liées à la croissance des fruits peuvent-elles être considérées comme des coûts retardés de la reproduction ?*

L'étude des effets de la reproduction sur la morphologie, l'anatomie et la conductivité hydraulique des UCs fructifères (Chapitre IV. 2. A) permet de mettre en évidence des coûts directs de la reproduction qui n'ont pas été évoqués jusqu'à présent dans d'autres travaux : la présence d'un fruit sur une UC entraîne des modifications anatomiques de l'UC porteuse, à savoir une augmentation du phloème pour Cogshall et José, et une augmentation du xylème et du sclérenchyme pour Cogshall. Bien que ces modifications ne représentent pas une conséquence négative pour l'UC porteuse, ils correspondent tout de même à des coûts directs, c'est-à-dire à un investissement dans la reproduction de manière concomitante au développement du fruit.

De plus, on peut se demander si ces modifications anatomiques liées à la croissance des fruits peuvent être considérées comme des coûts retardés de la reproduction, à travers la diminution de la conductivité hydraulique des UCs fructifères de Cogshall après la récolte, i.e., après le retrait des fruits sur l'UC. Une des hypothèses pour expliquer cette diminution est une occlusion des vaisseaux chez Cogshall après la récolte. On peut alors se demander si cette occlusion de vaisseaux chez Cogshall, liées à la présence d'un fruit, affecte la croissance végétative et la reproduction suivante, participant aux coûts retardés de la reproduction du manguier. Des mesures de conductivité hydraulique pourraient être effectuées, non pas au milieu de l'axe reproducteur porteur, mais sur l'interface tige-bourgeons latéraux, qui peuvent potentiellement débourrer après la récolte. Il a été montré chez le pommier que les cultivars se différencient par la croissance de leurs bourgeons axillaires (Lauri *et al.*, 1995 ; Lauri *et al.*, 2008b), et que le débourrement des bourgeons est lié à la conductance hydraulique (Cochard *et al.*, 2005 ; Han *et al.*, 2007). Cette expérimentation nous permettrait de voir si une occlusion des vaisseaux entraîne une diminution de conductivité à

l'interface tige-bourgeon, susceptible de diminuer la probabilité de débourrement des bourgeons de façon durable après le retrait du fruit.

Pour étudier l'hypothèse d'occlusion des vaisseaux de xylème de Cogshall, deux études pourraient être réalisées en parallèle : (1) la détection de champignons systémiques à l'intérieur des vaisseaux du xylème ; (2) l'identification de particules de pectine ou d'autres polysaccharides dans les vaisseaux du xylème (Neghliz *et al.*, 2016). Pour ces deux études, des mesures de conductivité hydraulique seraient effectuées sur la partie médiane des UCs de la même manière que lors de notre expérimentation hydraulique.

(1) Détection de champignons systémiques : La présence de champignons systémiques pourrait être détectée par la mise en culture sur un milieu approprié de coupes longitudinales de la partie basale d'UCs. Leur conductivité maximale serait mesurée dans leur partie médiane. Des expérimentations préliminaires de mise en culture ont été effectuées au cours de la saison 2015/2016. Nous avons pu mettre en évidence des différences entre les champignons présents dans les UCs reproductrices de Cogshall et dans celles de José (**Photo 14**). Les champignons présents dans les UCs de José sont en quantité bien inférieure que chez Cogshall et n'ont pas la même apparence. Il se peut que ces champignons soient des champignons saprophytes et non des champignons systémiques. L'identification des mycéliums par PCR après purification permettra de le déterminer.



**Photo 14** : Mises en culture d'unités de croissance fructifères de manguiers Cogshall (à gauche) et José (à droite) sur milieu de culture.

(2) Identification de particules : La recherche de particules dans les vaisseaux du xylème pourrait se faire par microscopie électronique, et la détermination de leur nature par des colorations adaptées. Par exemple une coloration au réactif de Schiff (Schiff et Liebig, 1886) permet de mettre en évidence la présence d'aldéhydes, qui se colorent en violet lorsqu'ils sont présents, qui sont probablement dérivés de l'oxydation de saccharides (Neghliz *et al.*, 2016).

## B. Perspectives agronomiques – quelles sont les applications agronomiques de nos résultats pour atténuer le phénomène d'irrégularité de production des manguiers ?

Cette thèse a pour but de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans l'irrégularité de production de différents cultivars manguiers. L'application potentielle des résultats de cette thèse a pour objectif final de régulariser les productions d'une année à la suivante, permettant ainsi aux producteurs d'obtenir des récoltes et des revenus réguliers.

Un des principaux résultats de cette thèse concerne l'effet négatif de la reproduction sur le débourrement végétatif, via une combinaison de mécanismes hormonaux et carbonés, et peut-être également de mécanismes hydrauliques. Nos résultats mettent en évidence des différences entre les périodes phénologiques du cycle de production, entre les natures d'UCs et entre cultivars. Une des perspectives agronomiques découlant de ces résultats est donc de mettre en place une conduite de l'arbre adaptée au cultivar, mais aussi à l'organisation de son architecture et à ces phases de croissance. Cette démarche, déjà pratiquée sur pommier (Lauri *et al.*, 2011) serait originale par rapport aux pratiques actuelles sur les fruitiers tropicaux. En effet, pour limiter l'irrégularité de production d'une année sur l'autre, les stratégies connues sont, les années de forte production, de réduire la charge en fruits des arbres, surtout chez les variétés alternantes, au début de la croissance des fruits. De plus, il est recommandé de tailler dès la fin de floraison les UCs qui n'ont pas fleuri ni fructifié, dans le but de favoriser la croissance végétative précoce (Amouroux *et al.*, 2009 ; Wolstenholme, 2010).

Nos résultats permettent de proposer des adaptations de la taille afin d'obtenir une croissance végétative importante et précoce, nécessaire à la bonne floraison suivante. Une croissance végétative précoce permet aux UCs terminales d'atteindre un âge donné nécessaire à l'induction florale, potentiellement de faire plusieurs étages de croissance et de se ramifier, augmentant ainsi le nombre de bourgeons disponible pour la floraison et la fructification suivantes. Sur la base de nos résultats, différentes stratégies de d'éclaircissage ainsi que de taille peuvent donc être proposées.

### **Réduction de la charge en fruits**

- Réduire la charge en fruits les années de forte production pour éviter une mobilisation des réserves carbonées de l'arbre par les fruits et une diminution de ces réserves nécessaires à la croissance végétative suivante, qui sera plus faible et plus tardive ;
- Enlever les fruits juste après la nouaison et ne pas attendre que le fruit se développe. Cela permet d'éviter un épuisement local des teneurs en amidon, qui progresse avec la croissance des fruits.

### **Taille**

- Lorsque la charge en fruit est élevée, tailler les UCs quiescentes et florifères qui n'ont pas fructifié, dès la fin de la floraison pour forcer un débourrement végétatif précoce sur ces UCs dans le but qu'elles aient le temps de développer une croissance végétative importante et ramifiée.
- Une fois la récolte terminée, tailler les UCs fructifères mais plus profondément que la taille des UCs quiescentes et florifères. Cette taille permet de retirer la partie des UCs dans laquelle la teneur en amidon est faible, à cause de leur mobilisation par et pour les fruits en croissance. Cette taille pourrait permettre un débourrement végétatif plus rapide. Cette taille profonde serait

particulièrement importante chez les UCs fructifères de Cogshall dont les vaisseaux semblent présenter une occlusion après la récolte.

- Tailler plusieurs étages d'UCs, permettant de limiter le volume de la canopée.

De plus, d'autres pratiques sont à mettre en œuvre en parallèle pour favoriser la croissance végétative :

- Gérer l'irrigation pour éviter le stress hydrique pendant la croissance végétative, notamment par des apports d'eau d'irrigation tant que les pluies ne sont pas bien installées ;
- Adapter le calendrier de fertilisation, en apportant des minéraux, par exemple de l'azote, au moment de la croissance végétative afin de stimuler celle-ci.

Ces recommandations de pratique de taille sont particulièrement importantes pour les cultivars alternants ou irréguliers, comme José, Cogshall, Kent, Nam Doc Maï ou encore Sensation. Différentes sévérités de taille, ainsi que des tailles localisées à certains endroits dans l'arbre, pourraient être réalisées sur ces cultivars alternants ou irréguliers, dans le but d'étudier les effets de ces tailles sur le redémarrage végétatif, ainsi que sur la floraison et la fructification futures.

Si un champignon systémique est présent dans les UCs de Cogshall et absent dans celle de José, des contrôles et des interventions peuvent avoir lieu, dans le but de réduire la propagation de ce champignon dans les arbres de Cogshall. Pour lutter contre le champignon responsable du stem-end-rot, plusieurs recommandations sont données, notamment par le Département d'Agriculture et de la Pêche du Queensland (<https://www.daf.qld.gov.au>) qui travaille beaucoup sur cette espèce chez le manguier, l'avocatier ou encore les agrumes (Johnson *et al.*, 1989 ; Everett, 2001) :

- Gérer l'irrigation. En effet, un stress hydrique au cours de la croissance des fruits peut prédisposer les fruits à l'infection. De plus, une irrigation trop importante entraîne une pourriture des racines, qui favorise l'infection de l'arbre par les champignons systémiques.
- Pulvériser des fongicides (oxychlorure de cuivre, iprodione ou propiconazole) avant la récolte, permettant de réduire l'incidence des lésions et des pourritures de la tige et dans les fruits (Johnson *et al.*, 1989) qui favorisent l'infection par les champignons.
- Tailler les arbres pour améliorer la ventilation et la pénétration des pulvérisations mentionnées ci-dessus.
- Tailler les branches mortes et les détruire.

## Conclusion

Ces travaux de recherche ont mis en évidence que le concept des coûts de la reproduction est un bon cadre de réflexion global pour des études sur l'irrégularité de production des arbres fruitiers.

Nous avons montré une relation entre les coûts retardé de la reproduction mis en évidence à une, voire à deux échelles (UCs et charpentières) et le caractère plus ou moins régulier des cultivars. De plus nous avons montré que ces coûts se traduisent par une diminution de la croissance végétative, et qu'une étape clé de cette diminution est une diminution de la probabilité de débourrement végétatif. Plusieurs mécanismes ont pu être identifiés comme pouvant contribuer à ces relations négatives de diminution de la probabilité de débourrement et d'un retard du débourrement lorsqu'il a lieu, à savoir des mécanismes hormonaux et trophiques. Plus

originellement, nous avons mis en évidence un coût direct de la reproduction sur la modification morphologie et anatomique de l'UC porteuse, et potentiellement un coût retardé de la reproduction sur l'UC porteuse chez Cogshall via une occlusion des vaisseaux du xylème.

Ces résultats apportent de nouvelles pistes de recherche pour améliorer notre compréhension de ce phénomène complexe qu'est l'irrégularité de production. Ils permettent également, sur un plan appliqué, de proposer différents modes de gestion des arbres de manguier, pour tenter de régulariser la production entre années consécutives.

## **Bibliographie**





---

## Bibliographie

---

- Aguilar-Martínez, J.A., Poza-Carrión, C., and Cubas, P. (2007). Arabidopsis BRANCHED1 acts as an integrator of branching signals within axillary buds. *Plant Cell*. 19: 458-72.
- Agronews Réunion. (2009). Dossier : la mangue, innover pour plus de qualité. 2.
- Aina, O., Quesenberry, K., and Gallo, M. (2012). Thidiazuron-Induced Tissue Culture Regeneration from Quartered-Seed Explants of *Arachis paraguariensis*. *Crop Science*. 52: 1076-1083.
- Akao, S., Tsukahara, S., Hisada, H., and Ono, S. (1981). Contribution of photosynthetic assimilates to development of flower and spring flush in Citrus unshiu Marc. *Journal Japanese Society for Horticultural Science*. 50: 1-9.
- Améglio, T. (1994). Fonctionnement hydrique du noyer durant la période non feuillée: conséquences sur le développement de l'arbre. Séminaire du Groupe d'Etude de l'Arbre : 'L'eau dans la vie de l'arbre', Clermont-Ferrand, 99-129.
- Amouroux, P., Normand, F., and Vincenot, D. (2009). Le raisonnement de la conduite du verger. In : Vincenot D. et Normand F. (eds), *Guide de production intégrée de mangues à La Réunion*, CIRAD et Chambre d'Agriculture de la Réunion, Saint-Pierre. 75-104.
- Anupunt, P., and Sukhvibul, N. (2003). Lychee and longan production in Thailand. *Acta Horticulturae*. 665: 53-60.
- Ashman, T.-L. (1992). Indirect costs of seed production within and between seasons in a gynodioecious species. *Oecologia*. 92: 266-272.
- Baena-González, E., Rolland, F., Thevelein, J. M., and Sheen, J. (2007). A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signalling. *Nature*. 448: 938-942.
- Bally, I.S.E., Harris, M.A., Kulkarni, V.J., Hamilton, D., Johnson, P.R., Robinson, D., et al. (1999). The Australian national mango breeding project. *Acta horticulturae*. 509: 225-232.
- Bally, I.S.E., Johnson, P.R., and Kulkarni, V.J. (2000). Mango production in Australia. *Acta Horticulturae*. 509: 59-67.
- Bally, I.S.E. (2006). *Mangifera indica* (mango). In: Elevitch C.R. (ed), *Traditional trees of pacific islands*. Honolulu, Hawaii: Permanent Agriculture Resources. 441-465.
- Bangerth, F. (1994). Response of cytokinin concentration in the xylem exudate of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to decapitation and auxin treatment, and relationship to apical dominance. *Planta*. 194: 439-442.
- Bangerth, F. (2006). Flower induction in perennial fruit trees: still an enigma? *Acta Horticulturae*. 727: 177-195.
- Bangerth, F. (2009). Floral induction in mature, perennial angiosperm fruit trees: similarities and discrepancies with annual/biennial plants and the involvement of plant hormones. *Scientia Horticulturae*. 122: 153-163.
- Bañuelos, M.J. (2001). Ecología del crecimiento y de la reproducción en el arbusto dioico. *Rhamnus Alpinus* L. Ph D. Dissertation. Oviedo University, Spain.
- Barbier, F., Péron, T., Lecerf, M., Perez-Garcia, M.D., Barrière, Q., Rolčík, J., et al. (2015). Sucrose is an early modulator of the key hormonal mechanisms controlling bud outgrowth in *Rosa hybrida*. *Journal of Experimental Botany*. erv047.
- Barritt, B.H., Konishi, B., and Dilley, M. (1997). Tree size, yield and biennial bearing relationships with 40 apple rootstocks and three scion cultivars. *Acta Horticulturae*. 451: 105-112.

- Barthélémy, D., and Caraglio, Y. (2007). Plant architecture: a dynamic, multilevel and comprehensive approach to plant form, structure and ontogeny. *Annals of Botany*. 99: 375-407.
- Bazzaz, F.A., and Ackerly, D. (1992). Reproductive allocation and reproductive effort in plants. *Seeds: the Ecology of Regeneration in Plant Communities* (ed. by M. Fenner). CAB International, Wallingford, Oxon, U.K., 1-26.
- Bernier, G., Havelange, A., Houssa, C., Petitjean, A., and Lejeune, P. (1993). Physiological signals that induce flowering. *The Plant Cell*. 5: 1147-1155.
- Bernier, G., and Périlleux, C. (2005). A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal*. 3: 3-16.
- Bogdanowicz, A.M., Olejniczak, P., Lembicz, M., and Zukowski, W. (2011). Costs of reproduction in life history of a perennial plant *Carex secalina*. *Central European Journal of Biology*. 6: 870-877.
- Bompard, J.M. (1989). Wild *Mangifera* species in Kalimantan (Indonesia) and in Malaysia. Final Report. *International Board for Plant Genetic Resources*, Rome, Italia.
- Bompard, J.M., and Schnell, R.J. (1997). Taxonomy and systematics. In : *The Mango, Botany, Production and Uses*. Edited by Litz, CAB International, 21-48.
- Bompard, J.M. (2009). Taxonomy and Systematics. In : Litz RE, ed. *The Mango: Botany, Production and Uses, 2nd edition*. Wallingford, UK: CABI, 19-41.
- Bustan, A., Erner, Y., and Goldschmidt, E.E. (1995). Interactions between developing *Citrus* fruits and their supportive vascular system. *Annals of Botany*. 76: 657–766.
- Campbell, R.J. (1992). *Mangos – a guide to mangos in Florida, published by Fairchild tropical garden*. Coordinating ed. Richard J. Campbell PhD thesis, p. 227.
- Campbell, R.J., and Campbell, C.W. (2005). Size does matter: pruning for perfection. Fairchild Tropical Garden, Miami, Fla. <http://www.ftg.org/horticulture/mangopruning.html>.
- Campbell, R.J., and Ledesma, N. (2015). Mango cultivars with potential for commercial development. *Acta Horticulturae*. 1075: 33-40.
- Capelli, M., Lauri, P.-É., and Normand, F. (2015). Effects of Vegetative Growth on Flowering and Fruiting at the Tree, Scaffold Branch and Growth Unit Scales. Implications for irregular bearing studies in mango. In *XI International Mango Symposium, 2015-09-28/2015-10-02, Darwin, Australia*.
- Capelli, M., Lauri, P.-É., and Normand, F. (2016). Deciphering the costs of reproduction in mango – vegetative growth matters. *Frontiers in Plant Science*. 7: 1531.
- Carrara, S., Pardossi, A., Soldatini, G.F., Tognoni, F., and Guidi, L. (2001). Photosynthetic activity of ripening tomato fruit. *Photosynthetica*. 39: 75-78.
- Chacko, E.K., Singh, R.N., and Kachru, R.B. (1970). Gibberellin-like substances in developing fruits of the mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Horticultural Science*. 45: 371-378.
- Chacko, E.K., Kohli, R.R., and Randdhawa, G.S. (1972). Studies on the effect of 2-chloroethyl phosphonic acid (Ethrel) on mango. I. Flower induction in an 'off' year in Langra trees. *Indian Journal of Horticulture*. 29: 1-4.
- Chacko, E.K., Kohli, R.R., and Randdhawa, G.S. (1974). Investigations on the use of (2-chloroethyl) phosphonic acid (ethephon, cepa) for the control of biennial bearing in mango. *Scientia Horticulturae*. 2: 389-398.
- Chacko, E.K., Reddy, Y.T.N., and Ananthanarayanan, T.V. (1982). Studies on the relationship between leaf number and area and fruit development in mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Horticultural Science*. 57: 483-492.

- Chacko, E.K. (1986). Physiology of vegetative and reproductive growth in mango (*Mangifera indica* L.) trees. In: *Proceedings of the First Australian Mango Research Workshop*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO), Melbourne, 54-70.
- Chaikiattiyos, S., Menzel, C.M., and Rasmussen, T.S. (1994). Floral induction in tropical fruit trees: effects of temperature and water supply. *Journal of Horticultural Science*. 69: 397-415.
- Chambre d'Agriculture de la Réunion, (2003). Rapport d'activités. SUAD, p. 32.
- Chan, B.G., and Cain, J.C. (1967). The effect of seed formation on subsequent flowering in apple. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 91: 63-67.
- Chandler, W.H. (1950). Evergreen orchards. Henry Kimpton. London.
- Chen, W.S. (1981). Physiological studies of fruiting in mango trees. II. Effect of endogenous growth substances on fruiting. *Proceedings National Science Council Part B, Life Sciences (Republic of China)*. 5: 49-55.
- Chen, W.S. (1987). Endogenous growth substances in relation to shoot growth and flower bud development of mango. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 112: 360-363.
- Chopart, J.L., Mezino, M., and Mezo, L.L. (2002). Relations entre l'altitude et la température mensuelle de l'air dans l'ouest de la Réunion. *Revue agricole et sucrière de l'île Maurice*. 80: 68-72.
- Cilas, C., Montagnon, C., and Bar-Hen, A. (2011). Yield stability in clones of *Coffea canephora* in the short and medium term: longitudinal data analyses and measures of stability over time. *Tree Genetics and Genomes*. 7: 421-429.
- Cochard, H., Coste, S., Chanson, B., Guehl, J.M., and Nicolini, E. (2005). Hydraulic architecture correlates with bud organogenesis and primary shoot growth in beech (*Fagus sylvatica*). *Tree Physiology*. 25: 1545-1552.
- Cody, M.L. (1966). A general theory of clutch size. *Evolution*. 20: 174-184.
- Conner, P.J., and Worley, R.E. (2000). Alternate bearing intensity of pecan cultivars. *HortScience*. 35: 1067-1069.
- Corbesier, L., Vincent, C., Jang, S., Fornara, F., Fan, Q., Searle, I., et al. (2007). FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of Arabidopsis. *Science*. 316: 1030-1033.
- Corlett, R.T., and LaFrankie, J.V. (1998). Potential impacts of climate change on tropical Asian forests through an influence on phenology. *Climate Change*. 39: 317-336.
- Costes, E., Lauri, P.-É., and Regnard, J.L. (2006). Analyzing fruit tree architecture: implications for tree management and fruit production. *Horticultural reviews*. 32: 1-61.
- Crisosto, C.H., Grantz, D.A., and Meinzer, F.C. (1992). Effects of water deficits on flower opening in coffee (*Coffea Arabica* L.). *Tree Physiology*. 10: 127-139.
- Dambreville, A. (2012). *Croissance et développement du manguiier (Mangifera indica L.) in natura: approche expérimentale et modélisation de l'influence d'un facteur exogène, la température, et de facteurs endogènes architecturaux*. Doctoral dissertation, Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc.
- Dambreville, A., Lauri, P.-É., Trottier, C., Guédon, Y., and Normand, F. (2013). Deciphering structural and temporal interplays during the architectural development of mango trees. *Journal of Experimental Botany*. 64: 2467-2480.
- Dambreville, A., Normand, F., and Lauri, P.-É. (2013b). Plant growth co-ordination in natura: a unique temperature-controlled law among vegetative and reproductive organs in mango. *Functional Plant Biology*. 40: 280-291.

- Dambreville, A., Lauri P.-É., Normand, F., and Guédon, Y. (2015). Analysing growth and development of plants jointly using developmental growth stages. *Annals of Botany*. 115: 93-105.
- Daniels, C., Mabusela, W., Marnewick, J., and Valentine, A. (2013). The carbon and nitrogen cost associated with the growth, reproductive and dormant phases of two South African semi-arid geophytic species of *Gethyllis* (Amaryllidaceae). *Australian Journal of Botany*. 61: 528-537.
- Davenport, T.L. (1993). Floral manipulation in mangos. In : Chia, L. E., and Evans, D. O. (eds) *Proceedings of the Conference on Mango in Hawaii*. Cooperative Extension Service, University of Hawaii, Honolulu, p. 54-60.
- Davenport, T.L., and Núñez-Elisea, R. (1997). Reproductive physiology. In: Litz, R.E. (ed.), *The mango, Botany, Production and Uses* 2<sup>nd</sup> Edition, CAB International, Wallingford. 69-146.
- Davenport, T.L. (2000). Processes influencing floral initiation and bloom: the role of phytohormones in a conceptual flowering model. *HortTechnology*. 10: 733-739.
- Davenport, T.L. (2003). Management of flowering in three tropical and subtropical fruit tree species. *HortScience*. 38: 1331-1335.
- Davenport, T.L. (2007). Reproductive physiology of mango. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 19: 363-376.
- Davenport, T.L. (2009). Reproductive physiology. In: Litz, R.E. (ed.), *The mango, Botany, Production and Uses* 2<sup>nd</sup> Edition, CAB International, Wallingford. 97-169.
- Davie, S.J., and Stassen, P.J.C. (1996). Mango model: starch distribution in different tissues of Sensation mango trees of varying ages. *Acta Horticulturae*. 455: 143-150.
- Davies, P.J. (2010). *Plant hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* Revised 3<sup>rd</sup> Edition, Ed. Springer, Dordrecht, Germany.
- De Candolle, A. (1885). *Origin of cultivated plants*. New York, USA: D. Appleton & Cie.
- Delph, L.F., and Meagher, T.R. (1995). Sexual dimorphism masks life history trade-off in the dioecious plant *Silene latifolia*. *Ecology*. 76: 775-785.
- Delph, L.F. (1999). Sexual dimorphism in life history. In: Geber, M.A., Dawson, T.E., Delph, L.F. (eds), *Gender and sexual dimorphism in flowering plants*. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag. 149-173.
- Delpoux, C., Muller, L., Marquier, M., et Quilici, S. (2015). Statut de la régulation biologique de la Cochenille des Seychelles, *Icerya seychellarum*, par la coccinelle *Rodolia chermesina* en vergers de manguiers. In: Deguine, J.-P., Gloanec, C., Schmitt, T. *Biodiversité et protection agroécologique des cultures*. Actes du Séminaire Biophyto, Saint-Pierre, La Réunion, 21-24 octobre 2014, 137-140.
- Domagalska, M.A., and Leyser, O. (2011). Signal integration in the control of shoot branching. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 12: 211-221.
- Durand, J.-B., Guitton, B., Peyhardi, J., Holtz, Y., Guédon, Y., Trottier, C., and Costes, E. (2013). New insights for estimating the genetic value of segregating apple progenies for irregular bearing during the first years of tree production. *Journal of Experimental Botany*. 64: 5099-5113.
- Edelin C. (1984). L'architecture monopodiale: L'exemple de quelques arbres d'Asie tropicale. PhD thesis, Université Montpellier II, Montpellier, France.
- Eloy, N.B., de Freitas Lima, M., Van Damme, D., Vanhaeren, H., Gonzalez, N., De Milde, L., et al. (2011). The APC/C subunit 10 plays an essential role in cell proliferation during leaf development. *The Plant Journal*. 68: 351-363.
- Essiamah, S., and Eschrich, W. (1986). Water uptake in deciduous trees during winter and the role of conducting tissues in spring reactivation. *IAWA Journal*. 7: 31-38.

- Euler, T.V., Ågren, J., and Ehrlén, J. (2012). Floral display and habitat quality affect cost of reproduction in *Primula farinosa*. *Oikos*. 121: 1400-1407.
- Everett, K.R. (2001). Stem-End Rots: Infection of ripening fruit. *New Zealand Avocado Growers' Association*. 1: 1-6.
- FAO (2011). *Save and grow. A policymaker's guide to the sustainable intensification of smallholder crop production*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (Ed.), Rome, Italia, p. 102.
- FAO (2015). The state of food insecurity in the world 2015. In *Meeting the*.
- FAOSTAT (2015). FAO Statistics Division, 2015.
- Ferguson, B.J., and Beveridge, C.A. (2009). Roles for auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching. *Plant physiology*. 149: 1929-1944.
- Ferree, D.C. (1992). Time of Root Pruning Influences Vegetative Growth, Fruit Size, Biennial Bearing, and Yield of Jonathan'Apple. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 117: 198-202.
- Fisher, R.A. (1930). *The genetical theory of natural selection*. Oxford University Press, Oxford.
- Forshey, C.G., and Elfving, D.C. (1989). The relationship between vegetative growth and fruiting in apple trees. *Horticultural Reviews*. 11: 229-287.
- FruiTrop (2015). In: Gerbaud, P. *Mangue*. 230 : 26-72.
- Galán Saúco, V. (1999). El cultivo del mango. *Gobierno de Canarias*, Ediciones Mundi-Prensa, p. 291.
- Galán Saúco, V. (2002). Mango production and world market: Current situation and future prospects. *Acta Horticulturae*. 645: 107-116.
- Galen, C., Dawson, T.E., and Stanton, M.L. (1993). Carpels as leaves: meeting the carbon cost of reproduction in an alpine buttercup. *Oecologia*. 95: 187-193.
- Gallasch, P.T., Bevington, K.B., Hocking, D., and Moss, G.I. (1978). Ethephon thinned heavy crops of 'Valencia' oranges in three widely spaced districts of Australia. *Proceedings to the International Society of Citriculture*. 273-276.
- Gardner, V.T. (1966). Principles of horticultural production. Michigan State Univ. Press, East Lansing.
- Geiger, D.R. (1976). Effects of translocation and assimilate demand on photosynthesis. *Canadian Journal of Botany*. 54: 2337-2345.
- Gepts, P. (2004). Crop domestication as a long-term selection experiment. *Plant Breeding Reviews*. 24: 1-44.
- Gerbaud, P. (2015). Dossier mangue. *FruiTrop* 230: 26-70.
- Gifford, R.M., and Evans, L.T. (1981). Photosynthesis, carbon partitioning, and yield. *Annual Review of Plant Physiology*. 32: 485-509.
- Goguey, T. (1995). *Approche architecturale des mécanismes de la croissance aérienne et de la floraison du manguier*. PhD thesis, Université Montpellier II, Montpellier, France.
- Goldschmidt, E.E., Goren, R., Even-Chen, Z., and Bittner, S. (1973). Increase in free and bound abscisic acid during natural and ethylene-induced senescence of citrus fruit peel. *Plant physiology*. 51: 879-882.
- Goldschmidt, E.E., and Golomb, A. (1982). The carbohydrate balance of alternate-bearing citrus trees and the significance of reserves for flowering and fruiting. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 107: 206-208.
- Goldschmidt, E.E., Aschkenazi, N., Herzano, Y., Schaffer, A.A., and Monselise, S.P. (1985). A role for carbohydrate levels in the control of flowering in citrus. *Scientia Horticulturae*. 26: 159-166.

- Goldschmidt, E.E. (1999). Carbohydrate supply as a critical factor for citrus fruit development and productivity. *HortScience*. 34: 1020-1024.
- Goldschmidt, E.E. (2005). Regulatory aspects of alternate bearing in fruit trees. *Italus Hortus*. 12: 11-17.
- Goldschmidt, E.E. (2013). The evolution of fruit tree productivity: a review. *Economic botany*. 67: 51-62.
- Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P.B., Puech-Pagès, V., Dun, E.A., Pillot, J.P., *et al.* (2008). Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*. 455: 189-194.
- Grace, J.B., and Wetzel, R.G. (1981). Effects of size and growth rate on vegetative reproduction in *Typha*. *Oecologia*. 50: 158-161.
- Guitton, B., Kelner, J.J., Velasco, R., Gardiner, S.E., Chagné, D., and Costes, E. (2012). Genetic control of biennial bearing in apple. *Journal of Experimental Botany*. 63: 131-149.
- Hallé, F., and Martin, R. (1968). Étude de la croissance rythmique chez l'hévéa (*Hevea brasiliensis* Müll. –Arg., Euphorbiacées, Crotonoïdées). *Adansonia*. 8: 475-503.
- Hallé, F., Oldeman, R.A.A., and Tomlinson, P.B. (1978). *Tropical trees and forests: an architectural analysis*. Springer-Verlag, New York, p. 437.
- Hammer, K. (1984). Das Domestikationssyndrom. *Kulturpflanze*. 32: 11-34.
- Han, H.H., Coutand, C., Cochard, H., Trottier, C., and Lauri, P. E. (2007). Effects of shoot bending on lateral fate and hydraulics: invariant and changing traits across five apple genotypes. *Journal of Experimental Botany*. 58: 3537-3547.
- Hanke, M., Flachowsky, H., Peil, A., and Hättasch, C. (2007). No flower no fruit. Genetic potentials to trigger flowering in fruit trees. *Genes, Genomes and Genomics*. 1: 1-20.
- Hansen, P. (1969). <sup>14</sup>C studies on apple trees. IV. Photosynthate consumption in fruits in relation to the leaf fruit ratio and to the leaf fruit position. *Physiologia Plantarum*. 22: 186-198.
- Hardner, C.M., Peacen, C., Lowe, A. J., Neal, J., Pisanu, P., Powell, M. *et al.* (2009). Genetic resources and domestication of macadamia. *Horticultural Reviews*. 35: 1-125.
- Harder, L.D., and Barrett, S.C.H. (1992). The energy cost of bee pollination for *Pontederia cordata* (Pontederiaceae). *Functional Ecology*. 6: 226-233.
- Harper, J.L., and Ogden, J. (1970). The reproductive strategy of higher plants. I. The concept of strategy with special reference to *Senecio vulgaris* L. *J. Ecology*. 58: 681-698.
- Harper, J.L. (1977). *Population biology of plants*. London, UK: Academic Press.
- Hartless, A.C. (1914). Mango crops and some factors influencing them. *Agricultural Journal of India*. 9: 141-159.
- Hayward, A., Stirnberg, P., Beveridge, C., and Leyser, O. (2009). Interactions between auxin and strigolactone in shoot branching control. *Plant physiology*. 151: 400-412.
- Hegele, M., Bangerth, F., Naphrom, D., Sruamsiri, P., and Manochai, P. (2005). Control of flower induction in tropical/subtropical fruit trees by phytohormones using the example of longan and mango. In *X International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production*. 727: 217-276.
- Hemborg, Å.M., and Karlsson, P.S. (1998). Altitudinal variation in size effects on plant reproductive effort and somatic costs of reproduction. *Ecoscience*. 5: 517-525.
- Henriksson, J., and Ruohomäki, K. (2000). Assessing costs of reproduction in mountain birch: the importance of considering the modular level. *Annals of Botany*. 86: 503-510.
- Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Mennen, L., Malvy, D., *et al.* (2004). The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Archives of Internal Medicine*. 164: 2335-2342.

- Herrera, C.M., Jordano, P., Lopez-Soria, L., and Amat, J.A. (1994). Recruitment of a mast-fruited, bird-dispersed tree: bridging frugivore activity and seedling establishment. *Ecological monographs*. 64: 315-344.
- Hoad, G.V. (1978). The role of seed-derived hormones in the control of flowering in apple. *Acta Horticulturae*. 80: 93-103.
- Hoad, G.V. (1984). Hormonal regulation of fruit bud formation in fruit trees. *Acta Horticulturae*. 149: 13-23.
- Hoarau, I., Michels, T. and Vincenot D. (2009). III. Le marché de la mangue. In : Vincenot D. et Normand F. (eds), *Guide de production intégrée de mangues à La Réunion*, CIRAD et Chambre d'Agriculture de la Réunion, Saint-Pierre. 39-43.
- Hoblyn, T.N., Grubb, N.H., Painter, A.C., and Wates, B.L. (1936). Studies in biennial bearing. *International Journal of Pomology and Horticultural Science*. 14: 39-76.
- Holdsworth, M. (1963). Intermittent growth of the Mango tree. *Journal of the West African Science Association*. 7: 163-171.
- Horvitz, C.C., and Schemske, D.W. (2002). Effects of plant size, leaf herbivory, local competition and fruit production on survival, growth and future reproduction of a neotropical herb. *Journal of Ecology*. 90: 279-290.
- Huang, L., Zhang, H., Zhang, H., Deng, X.W., and Wei, N. (2015). *HY5* regulates nitrite reductase 1 (NIR1) and ammonium transporter1; 2 (AMT1; 2) in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Science*. 238: 330-339.
- Huff, A. (2001). A significance test for biennial bearing using data resampling. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 76: 534-535.
- Issarakraisila, M., Considine, J.A., and Turner, D.W. (1991). Pattern of vegetative and reproductive growth of mango trees in a warm temperate region of Western Australia. *Acta Horticulturae*. 291: 188-197.
- Issarakraisila, M., Considine, J.A., and Turner, D.W. (1997). Vegetative and reproductive growth aspects of mango growing in a mediterranean climate in western Australia. *Acta Horticulturae*. 455: 56-63.
- Iyer, C.P.A., and Schnell, R.J. (2009). Breeding and genetics. In: Litz, R.E. (ed.), *The Mango: Botany, Production and Uses, 2nd edition*. Wallingford, UK: CABI, 67-96.
- Jannoyer, M., and Lauri, P.-É. (2009). Young flush thinning in Mango (cv. Cogshall) controls canopy density and production. *Acta Horticulturae*. 820: 395-402.
- Joas, J., and Léchaudel, M. (2009). La récolte et la conservation. In : Vincenot D. et Normand F. (eds), *Guide de production intégrée de mangues à La Réunion*, CIRAD et Chambre d'Agriculture de la Réunion, Saint-Pierre. 105-118.
- Johnson, G.I., Cooke, A.W., Mead, A.J., and Wells, I.A. (1989). Stem end rot of mango in Australia: causes and control. *Acta Horticulturae*. 291: 288-295.
- Jonkers, H. (1979). Biennial bearing in apple and pear: a literature survey. *Scientia Horticulturae*. 11: 303-307.
- Jönsson, K.I., and Tuomi, J. (1994). Costs of reproduction in a historical perspective. *Trends in Ecology and Evolution*. 9: 304-306.
- Jönsson, K.I. (2000). Life history consequences of fixed costs of reproduction. *Ecoscience*. 7: 423-427.
- Jumaux, G., Quetelard, H., and Roy, D. (2011). *Atlas climatique de La Réunion*, Trappes, Direction interrégionale de La Réunion de Météo France, p. 131.

- Kakimoto, T. (2003). Perception and signal transduction of cytokinins. *Annual review of plant biology*. 54: 605-627.
- Karam, W.P. (2009). *Tree growth: influences, layers and types*. New York, USA: Nova Science Publishers.
- Karlsson, P.S., and Méndez, M. (2005). The resource economy of plant reproduction. *Reproductive allocation in plants*. 1-49.
- Kawamura, K., and Takeda, H. (2006). Cost and probability of flowering at the shoot level in relation to variability in shoot size within the crown of *Vaccinium hirtum* (Ericaceae). *New Phytologist*. 171: 69-80.
- Kelly, D., and Sork, V.L. (2002). Mast seeding in perennial plants: why, how, where? *Annual Review of Ecology and Systematics*. 33: 427-447.
- Kiba, T., Yamada, H., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Yamashino, T., *et al.* (2003). The type-A response regulator, ARR15, acts as a negative regulator in the cytokinin-mediated signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*. 44: 868-874.
- Kim, J.H., Choi, D., and Kende, H. (2003). The AtGRF family of putative transcription factors is involved in leaf and cotyledon growth in *Arabidopsis*. *Plant Journal*. 36: 94-104.
- Kislev, M.E., Hartmann, A., and Bar-Yosef, O. (2006). Early domesticated fig in the Jordan valley. *Science*. 312: 1372-1374.
- Kittikorn, M., Okawa, K., Ohara, H., Kotoda, N., Wada, M., Yokoyama, M., *et al.* (2011). Effects of fruit load, shading, and 9, 10-ketol-octadecadienoic acid (KODA) application on MdTFL1 and MdFT1 genes in apple buds. *Plant Growth Regulation*. 64: 75-81.
- Knight, R.J., Campbell, R.J., and Maguire, I. (2009). Important mango cultivars and their descriptors. In : Litz RE, ed. *The Mango: botany, production and uses, 2nd edition*. Wallingford, UK: CABI, 42-66.
- Kohler, F., and Pellegrin, F. (1992). Pathologie des végétaux cultivés: Symptomatologie et méthode de lutte. Nouvelle-Calédonie, Polynésie Française, Wallis et Futuna.
- Konno, K. (2011). Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein. *Phytochemistry*. 72: 1510-1530.
- Kosterman, A.J., and Bompard, J.M. (1993). The mangoes, their botany, nomenclature, horticulture and utilization. Academic Press. London, p. 233.
- Kozłowski, J. (1992a). Optimal allocation of resources to growth and reproduction: implications for age and size at maturity. *Trends in Ecology & Evolution*. 7: 15-19.
- Kozłowski, T.T. (1992b). Carbohydrate sources and sinks in woody plants. *The Botanical Review*. 58: 107-222.
- Lam, H.M., Peng, S.S. and Coruzzi, G.M. (1994). Metabolic regulation of the gene encoding glutamine-dependent asparagine synthetase in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*. 106: 1347-1357.
- Laroussilhe, F. (1980). Le Manguier: Techniques Agricoles et Productions Tropicales. Maisonneuve et Larose, p. 312.
- Lauri, P.-É., Térouanne, E., Lespinasse, J.M., Regnard, J.L., and Kelner, J.J. (1995). Genotypic differences in the axillary bud growth and fruiting pattern of apple fruiting branches over several years – an approach to regulation of fruit bearing. *Scientia Horticulturae*. 64: 265-281.
- Lauri, P.-É., and Lespinasse, J.M. (1999). Apple tree training in France: current concepts and practical implications. *Fruits*. 54: 441-454.



- Lauri, P.-É., and Laurens, F. (2005). Architectural types in apple (*Malus x domestica* Borkh.) - Concepts and use for tree management and genetic improvement in France. In: Dris, R. (ed.), *Crops: growth, quality and biotechnology*. The Haworth Press, Inc. 1300-1313.
- Lauri, P.-É., Maguylo, K., and Trottier, C. (2006). Architecture and size relations: an essay on the apple (*Malus x domestica*, Rosaceae) tree. *American Journal of Botany*. 93: 357-368.
- Lauri, P.-É., Costes, E., Regnard, J.L., Brun, L., Simon, S., Monney, P., et al. (2008a). Does knowledge on fruit tree architecture and its implications for orchard management improve horticultural sustainability? An overview of recent advances in the apple. *Acta Horticulturae*. 817: 243-250.
- Lauri, P.-É., Bourdel, G., Trottier, C., and Cochard, H. (2008b). Apple shoot architecture: evidence for strong variability of bud size and composition and hydraulics within a branching zone. *New Phytologist*. 178: 798-807.
- Lauri, P.-É., Kelner, J.J., Trottier, C., and Costes, E. (2010). Insights into secondary growth in perennial plants: its unequal spatial and temporal dynamics in the apple (*Malus domestica*) is driven by architectural position and fruit load. *Annals of Botany*. 105: 607-616.
- Lauri, P.-É., Hucbourg, B., Ramonguilhem, M., and Méry, D. (2011). An architectural-based tree training and pruning – identification of key features in the apple. *Acta horticulturae*. 903: 589-596.
- Lavee, S. (2007). Biennial bearing in olive (*Olea europaea* L.). *Annales du Muséum National d'Histoire Naturelle*. 17: 101-112.
- Léchaudel, M. (2004). Croissance et qualité organoleptique de la mangue (*Mangifera indica*) : analyse expérimentale et modélisation de l'effet de la disponibilité hydrique et carbonée. Thèse, Institut national Agronomique de Paris-Grignon, Paris, France, p. 146.
- Léchaudel, M., Génard, M., Lescourret, F., Urban, L., and Jannoyer, M. (2005). Modeling effects of weather and source–sink relationships on mango fruit growth. *Tree Physiology*. 25: 583-597.
- Léchaudel, M., Vercambre, G., Lescourret, F., Normand, F., and Génard, M. (2007). An analysis of elastic and plastic fruit growth of mango in response to various assimilate supplies. *Tree Physiology*. 27: 219-230.
- Léchaudel, M., and Joas, J. (2006). Quality and maturation of mango fruits of cv. Cogshall in relation to harvest date and carbon supply. *Crop and Pasture Science*. 57: 419-426.
- Léchaudel, M., and Joas, J. (2007). An overview of preharvest factors influencing mango fruit growth, quality and postharvest behaviour. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 19: 287-298.
- Léchaudel, M., Lopez-Lauri, F., Vidal, V., Sallanon, H., and Joas, J. (2013). Response of the physiological parameters of mango fruit (transpiration, water relations and antioxidant system) to its light and temperature environment. *Journal of Plant Physiology*. 170: 567-576.
- Lenz, F. (1967). Relationships between the vegetative and reproductive growth of Washington Navel orange cuttings (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of Horticultural Science*. 42: 31-39.
- Levins, R. (1968). *Evolution in changing environments: some theoretical explorations* (No. 2). Princeton University Press.
- Lloyd, D.G., and Webb, C.J. (1977). Secondary sex characters in plants. *Botanical Review*. 43: 177-216.
- Lovatt, C.J. (2010). Alternate bearing of 'Hass' avocado. *California Avocado Society Yearbooks*. 93: 125-140.
- Lovett-Doust J, and Lovett-Doust L. (1987). Leaf demography and clonal growth in female and male *Rumex acetosella*. *Ecology*. 68: 2065-2078.
- Luckwill, L.C. (1974). A new look at the process of fruit bud formation in apple. *Acta Horticulturae*. 3: 237-245.

- Lytovchenko, A., Eickmeier, I., Pons, C., Osorio, S., Szecowka, M., Lehmberg, K., *et al.* (2011). Tomato fruit photosynthesis is seemingly unimportant in primary metabolism and ripening but plays a considerable role in seed development. *Plant Physiology*. 157: 1650-1663.
- Marino, F., and Greene, W. (1981). Involvement of gibberellins in the biennial bearing of 'Early McIntosh' apples. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 106: 593-596.
- Mason, M.G., Ross, J.J., Babst, B.A., Wienclaw, B.N., and Beveridge, C.A. (2014). Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 111: 6092-6097.
- Mattiolo, O. (1899). Sulla influenza che la estirpazione die fiori esercita sui tubercoli radicali delle piante leguminose. *Malphighia*. 13: 382-421.
- McCarthy, M.G. (1997). The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 3: 2-8.
- Medlicott, A.P., Bhogal, M., and Reynolds, S.B. (1986). Changes in peel pigmentation during ripening of mango fruit (*Mangifera indica* var. Tommy Atkins). *Annals of Applied Biology*. 109: 651-656.
- Michels, T., et Vincenot, D. (2009). Le verger de manguiers à la Réunion, intérêt économique. In : Vincenot D. et Normand F. (eds), *Guide de production intégrée de mangues à La Réunion*, CIRAD et Chambre d'Agriculture de la Réunion, Saint-Pierre. 27-37.
- Mitra, S., and Baldwin, E. (1997). Postharvest physiology storage of tropical and subtropical fruit. In: Mitra, S. K. (ed.), *The mango, botany, production and uses*, edited by Litz, CAB International, 1-20. New York, NY: CAB International. 85-122.
- Miyawaki, K., Matsumoto-Kitano, M., and Kakimoto, T. (2004). Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in Arabidopsis: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate. *The Plant Journal*. 37: 128-138.
- Monselise, S.P., and Goldschmidt, E.E. (1982). Alternate bearing in fruit trees. *Horticultural Reviews*. 4: 128-173.
- Morettini, A. (1950). Olivicultura. Edit. Agricoltori, Rome.
- Moss, G.I. (1969). Influence of temperature and photoperiod on flower induction and inflorescence development in sweet orange (*Citrus sinensis*). *Journal of Horticultural Science*. 44: 311-320.
- Mourão Filho, F.D.A.A., Espinoza-Núñez, E., Stuchi, E.S., and Ortega, E.M.M. (2007). Plant growth, yield, and fruit quality of 'Fallglo' and 'Sunburst' mandarins on four rootstocks. *Scientia Horticulturae*. 114: 45-49.
- Muhammad, F., Ibrahim, M., and Pervez, M.A. (1999). Vegetative and reproductive growth pattern of mango (*Mangifera Indica* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*. 1: 97-99.
- Mukherjee, S.K. (1953). The mango— Its botany, cultivation, uses and future improvement, especially as observed in India. *Economic Botany*. 7: 130-162.
- Mukerjee, S.A. (1997). Botany and importance. In : *The mango, botany, production and uses*, edited by Litz, CAB International, 1-20.
- Mukherjee, S. K., and Litz, R.E. (2009) Introduction: Botany and Importance. In: Litz, R.E. (ed.) *The mango, Botany, Production and Uses* 2<sup>nd</sup> Edition, CAB International, Wallingford, 1-18.
- Müller, D., Waldie, T., Miyawaki, K., To, J.P., Melnyk, C.W., Kieber, J.J., *et al.* (2015). Cytokinin is required for escape but not release from auxin mediated apical dominance. *The Plant Journal*. 82: 874-886.
- Muñoz-Fambuena, N., Mesejo, C., González-Mas, M C., Primo-Millo, E., Agustí, M., and Iglesias, D.J. (2011). Fruit load modulates flowering-related gene expression in buds of alternate-bearing 'Moncada' mandarin. *Annals of Botany*. 110: 1109-1118.

- Murneek, A.E. (1926). Effects of correlation between vegetative and reproductive functions in the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Physiology*. 1: 3-56.
- Nakagawa, M., Honsho, C., Kanzaki, S., Shimizu, K., and Utsunomiya, N. (2012). Isolation and expression analysis of FLOWERING LOCUS T-like and gibberellin metabolism genes in biennial-bearing mango trees. *Scientia Horticulturae*. 139: 108-117.
- Nakasone, H.Y., Bowers, F.A.I., and Beaumont, J.H. (1955). Terminal growth and flowering behavior of the Pirie mango (*Mangifera indica* L.) in Hawaii. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*. 66: 183-291.
- Naphrom, D., Sruamsiri, P., Hegele, M., Boonplod, N., Bangerth, F., Manochai, P. (2004). Hormonal changes in various tissues of mango trees during flower induction following cold temperature. *Acta Horticulturae*. 645: 453-457.
- Neghliz, H., Cochard, H., Brunel, N., and Martre, P. (2016). Ear Rachis Xylem Occlusion and Associated Loss in Hydraulic Conductance Coincide with the End of Grain Filling for Wheat. *Frontiers in Plant Science*. 7.
- Newbery, D.M., Chuyong, G.B., and Zimmermann, L. (2006). Mast fruiting of large ectomycorrhizal African rain forest trees: importance of dry season intensity, and the resource-limitation hypothesis. *New Phytologist*. 170: 561-579.
- Newell, E.A. (1991). Direct and delayed costs of reproduction in *Aesculus californica*. *Journal of Ecology*. 79: 365-378.
- Nicotra, A.B. (1999). Reproductive allocation and the long-term costs of reproduction in *Sipanea grandiflora*, a dioecious neotropical shrub. *Journal of Ecology*. 87: 138-149.
- Norden, N., Chave, J., Belbenoit, P., Caubère, A., Châtelet, P., Forget, P.M., and Thébaud, C. (2007). Mast fruiting is a frequent strategy in woody species of Eastern South America. *PLoS One*. 2: e1079.
- Nordey, T. (2014). Analyse expérimentale et modélisation de l'effet de l'environnement sur l'élaboration de la qualité et la maturation de la mangue. Doctoral dissertation, Université d'Avignon, France p. 221.
- Nordey, T., Léchaudel, M., and Génard, M. (2015). The decline in xylem flow to mango fruit at the end of its development is related to the appearance of embolism in the fruit pedicel. *Functional Plant Biology*. 42: 668-675.
- Normand, F., Bissery, C., Damour, G., Lauri, P.-É. (2008). Hydraulic and mechanical stem properties affect leaf-stem allometry in mango cultivars. *New Phytologist*. 178: 590-602.
- Normand, F., Pambo Bello, A.K., Trottier, C., and Lauri, P.-É. (2009). Is axis position within tree architecture a determinant of axis morphology, branching, flowering and fruiting? An essay in mango. *Annals of Botany*. 103: 1325-1336.
- Normand, F. (2009). Généralités taxonomiques : la famille et le genre du manguier. In : Vincenot D. et Normand F. (eds), Guide de production intégrée de mangues à La Réunion, CIRAD et Chambre d'Agriculture de la Réunion, Saint-Pierre. 45-58.
- Normand, F., and Lauri, P.-É. (2012). Assessing allometric models to predict vegetative growth of mango (*Mangifera indica*; *Anacardiaceae*) at the current-year branch scale. *American Journal of Botany*. 99: 425-437.
- Normand, F., and Lauri, P.-É. (2016). Integrated mango production: objectives and challenges. In : XI Symposium on Integrating Canopy, Rootstock and Environmental Physiology in Orchard Systems: Book of abstracts. Corelli Grappadelli Luca (ed.). ISHS, Bologna University. Bologne : ISHS, Résumé, p. 79

- Normand, F., M. Capelli and P.-É Lauri. 2016. The Costs of Reproduction in Plants: a Novel Approach to Study Irregular Bearing of Fruit Crops. *Acta Horticulturae*. 1130: 207-213.
- Núñez-Elisea, R. and Davenport, T.L. (1992). Requirement of mature leaves during floral induction and floral transition in developing shoots of mango. *Acta Horticulturae*. 296: 33-47.
- Núñez-Elisea, R., and Davenport, T.L. (1994). Flowering of mango trees in containers as influenced by seasonal temperature and water stress. *Scientia Horticulturae*. 58: 57-66.
- Núñez-Elisea, R., and Davenport, T.L. (1995). Effect of leaf age, duration of cool temperature treatment, and photoperiod on bud dormancy release and floral initiation in mango. *Scientia Horticulturae*. 62: 63-73.
- Núñez-Elisea, R., Davenport, T.L., Caldeira, M.L. (1996). Control of bud morphogenesis in mango (*Mangifera indica* L.) by girdling, defoliation and temperature modification. *Journal of Horticultural Science*. 71: 25-40.
- Núñez-Elisea, R., and Davenport, T. L. (1998). Gibberellin and temperature effects on dormancy release and shoot morphogenesis of mango (*Mangifera indica* L.). *Scientia horticulturae*. 77: 11-21.
- Obeso, J.R., and Grubb, P J. (1993). Fruit maturation in the shrub *Ligustrum vulgare* (Oleaceae): lack of defoliation effects. *Oikos*. 68: 309-316.
- Obeso, J.R., (1997). Costs of reproduction in *Ilex aquifolium*: effects at tree, branch and leaf levels. *Journal of Ecology*. 85: 159-166.
- Obeso, J.R., (2002). The costs of reproduction in plants. *New Phytologist*. 155: 321-348.
- Obeso, J.R. (2004). A hierarchical perspective in allocation to reproduction from whole plant to fruit and seed level. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 6: 217-225.
- Ogawa, Y. (1963). Studies on the conditions for gibberellin assay using rice seedling. *Plant and Cell Physiology*. 4: 227-237.
- ONU, Organisation des Nations Unies (2015).
- Oude Griep. L. (2011). Colors of Fruit and Vegetables and 10-Year Incidence of Stroke. *Stroke*.
- Partridge, L., and Farquhar, M. (1981). Sexual activity educes life span of male fruit flies. *Nature*. 294: 580-582.
- Pearce, S.C., and Dobersek-Urbanc, S. (1967). The measurement of irregularity in growth and cropping. *Journal of Horticultural Science*. 42: 295-305.
- Pellerin, B.P., Buszard, D., Iron, D., Embree, C.G., Marini, R.P., Nichols, D.S., et al. (2011). A theory of blossom thinning to consider maximum annual flower bud numbers on biennial apple trees. *HortScience*. 46: 40-42.
- Piller, G.J., and Meekings, J.S. (1997). The acquisition and utilization of carbon in early spring by kiwifruit shoots. *Annals of Botany*. 79: 573-581.
- Piller, G.J., Greaves, A.J., and Meekings, J.S. (1998). Sensitivity of Floral Shoot Growth, Fruit Set and Early Fruit Size in *Actinidia deliciosa* to Local Carbon Supply. *Annals of Botany*. 81: 723-728.
- Prakash, S., and Ram, S. (1984). Naturally occurring auxins and inhibitor and their role in fruit growth and drop of mango 'Dashehari'. *Scientia Horticulturae*. 22: 241-248.
- Primack, R.B., and Hall, P. (1990). Costs of reproduction in the pink lady's slipper orchid: a four-year experimental study. *American Naturalist*. 136: 638-656.
- Pyke, G.H. (1991). What does it cost a plant to produce floral nectar?. *Nature*. 350: 58-59.
- Queensland Department of Agriculture and Fisheries. <https://www.daf.qld.gov.au/about-us/contact-us/offices>

- Rae, G.M., Uversky, V.N., David, K., and Wood, M. (2014). DRM1 and DRM2 expression regulation: potential role of splice variants in response to stress and environmental factors in Arabidopsis. *Molecular Genetics and Genomics*. 289: 317-33.
- Ram, S. (1983). Hormonal control of fruit growth and fruit drop in mango cv Dashehari. *Acta Horticulturae*. 134: 169-178.
- Ramírez, F., and Davenport, T.L. (2010). Mango (*Mangifera indica* L.) flowering physiology. *Scientia Horticulturae*. 126: 65-72.
- Ramírez, F., Davenport, T.L., Fischer, G., and Pinzón, J.C.A. (2010). The stem age required for floral induction of synchronized mango trees in the tropics. *HortScience*. 45: 1453-1458.
- Ramírez, F., and Davenport, T.L. (2012). Reproductive biology (physiology)—the case of mango. *Mango*. 1: 56-81.
- Ramsey, M. (1997). No evidence for demographic costs of seed production in the pollen-limited perennial herb *Blandfordia grandiflora* (Liliaceae). *International Journal of Plant Science*. 158: 785-793.
- Randhawa, G.S., and Damodaran, V.K. (1961). Studies on floral biology and sex ratio in mango (*Mangifera indica* L.) I. A review. *Indian Journal of Horticulture*. 18: 29-35.
- Rao, M.M. (1997). Towards making mango a regular bearer. *University of Agricultural Sciences Technology Series No. 5*, Dharwad, India, p. 94.
- Ratcliffe, O.J., Bradley, D.J., and Coen, E.S. (1999). Separation of shoot and floral identity in Arabidopsis. *Development*. 126: 1109-1120.
- Raunet, M. (1991). Le milieu physique et les sols de l'île de la Réunion. Conséquences pour la mise en valeur agricole (ed.) Cirad, p. 438.
- Raven, P.H., Evert, R.F., and Eichhorn, S.E. (1961). *Biologie végétale, 2<sup>e</sup> édition*, De Boeck, 2007 (ISBN 978-2-8041-5020-4) et d'après Scout, P.R., *Proceeding of the Ninth Annual California Fertilizer Conference*.
- Reddy, Y.T.N., and Singh, G. (1991). Further studies on the relationship between leaf number and area fruit development in mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Horticultural Science*. 66: 471-478.
- Reddy, Y.T.N., Kurian, R.M., Ramachander, P.R., Singh, G., and Kohli, R.R. (2003). Long-term effects of rootstocks on growth and fruit yielding patterns of 'Alphonso' mango (*Mangifera indica* L.). *Scientia Horticulturae*. 97: 95-108.
- Reece, P.C., Furr, J.R., and Cooper, W.C. (1949). Further studies of floral induction in the Haden mango (*Mangifera indica* L.). *American Journal of Botany*. 36: 734-740.
- Reekie, E.G., and Bazzaz, F.A. (1992). Cost of reproduction as reduced growth in genotypes of two congeneric species with contrasting life histories. *Oecologia*. 90: 21-26.
- Reekie, E.G., and Bazzaz, F.A. (2005). Reproductive allocation in plants. Burlington, California, London: Elsevier Academic Press.
- Regnard, J.L., Lauri P.-É., and Moore, W. (2002). Vigueur. In: Thesaurus de termes de morphologie et de morphogénèse des arbres. *Arbres et Sciences* 2: 55-61.
- Reznick, D.N. (1985). Cost of reproduction: an evaluation of the empirical evidence. *Oikos*. 44: 257-267.
- Roemer, M.G., Hegele, M., Wünsche, J.N., and Huong, P.T. (2008). Possible physiological mechanisms of premature fruit drop in mango (*Mangifera indica* L.) in Northern Vietnam. *Acta Horticulturae*. 903: 999-1006.
- Roff, D.A. (1992). *The evolution of life histories: theory and analysis*. Chapman and Hall, New York.

- Rosenstock, T.S., Rosa, U.A., Plant, R.E., Brown, P.H. (2010). A reevaluation of alternate bearing in pistachio. *Scientia Horticulturae*. 124: 149-152.
- Roy, R.S. (1953). Study of Irregular Bearing of Mango (*Mangifera indica* L.). *Indian Journal of Horticulture*. 10: 157-160.
- Sachs, R.M. (1977). Nutrient diversion: a hypothesis to explain the chemical control of flowering. *HortScience*. 12: 220-222.
- Sakakibara, H. (2010). Cytokinin biosynthesis and metabolism. In *Plant Hormones*. Springer Netherlands. p. 95-114.
- Salisbury, E.J. (1942). *The reproductive capacity of plants*. G. Bell and Sons, London.
- Samach, A., and Smith, H.M. (2013). Constraints to obtaining consistent annual yields in perennials. II: Environment and fruit load affect induction of flowering. *Plant Science*. 207: 168-176.
- Schaffer, A.A., Goldschmidt, E.E., Goren, R., and Galili, D. (1985). Fruit set and carbohydrate status in alternate and non-alternate bearing Citrus cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 110: 574-578.
- Schaller, G.E., Mathews, D.E., Gribskov, M., and Walker, J.C. (2002). Two-component signaling elements and histidyl aspartyl phosphorelays. In: Somerville, C., and Meyerowitz, E. (eds), *The Arabidopsis Book*. Rockville, MD: American Society of Plant Biologists.
- Schiff, H., and Liebig, J. (1886). Eine neue Reihe organischen Diaminen. *Annalen der Chemie*. 140: 92-137.
- Scholefield, P.B., Oag, D.R., and Sedgley, M. (1986). The relationship between vegetative and reproductive development in the mango in northern Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*. 37: 425-433.
- Segura, V., Durel, C.E., and Costes, E. (2009). Dissecting apple tree architecture into genetic, ontogenetic and environmental effects: QTL mapping. *Tree genetics and genomes*. 5: 165-179.
- Selvaraj, Y., Kumar, R., and Pal, D.K. (1989). Changes in sugars, organic acids, amino acids, lipid constituents and aroma characteristics of ripening mango (*Mangifera indica* L) fruit. *Journal of Food Science and Technology*. 26: 308-313.
- Shaban, A.E.A. (2009). Vegetative growth cycles of some mango cultivars in relation to flowering and fruiting. *World Journal of Agricultural Sciences*. 5: 751-759.
- Shinozaki, K., Yoda, K., Hozumi, K., and Kira, T. (1964a). A quantitative analysis of plant form-the pipe model theory: I. Basic analyses. *Japanese Journal of Ecology*. 14: 97-105.
- Shinozaki, K., Yoda, K., Hozumi, K., and Kira, T. (1964b). A quantitative analysis of plant form - the pipe model theory. II. Further evidence of the theory and its application in forest ecology. *Japanese Journal of Ecology*. 14: 133-139.
- Shivashankara, K.S., and Mathai, C.K. (1995). Physiological diversity among the potentially productive branches of regular and irregular bearing mango cultivars. *Photosynthetica (Czech Republic)*. 36: 1-4.
- Singh, L. (1948). Studies on biennial bearing. III. Growth studies on 'on' and 'off' year trees. *Journal of Horticultural Science*. 24: 123-148.
- Singh, R.N. (1954). Studies on the floral biology and subsequent development of fruits in the mango (*Mangifera indica* L.) varieties Dashehari and Langra. *Indian Journal of Horticulture*. 11: 69-88.
- Singh, L.B., and Singh, R.N. (1956). Floral induction in axillary buds of mango shoots. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*. 68: 265-269.
- Singh, R.N. (1959). Studies in the differentiation and development of fruit buds in mango (*Mangifera indica* L.) varieties III. Mango shoots and fruit bud differentiation. *Horticultural Advance*. 3: 28-49.

- Singh, L.B. (1960). *The mango. Botany, cultivation, and utilization*. London, UK: Leonard Hill.
- Singh, L.B. (1972). Biennial bearing in mango – Retrospect and prospect. *Acta Horticulturae*. 24: 145-148.
- Singh, R., and Singh, R.N. (1974). Growth-promoting and growth-inhibiting substances in developing fruits of biennial and regular bearing varieties of mango (*Mangifera indica* L.) *Indian Journal of Horticulture*. 31: 16-22.
- Sletvold, N., and Ågren, J. (2015). Nonlinear costs of reproduction in a long-lived plant. *Journal of Ecology*. 130: 1205-1213.
- Smith, M.W., Shaw, R.G., Chapman, J.C., Owen-Turner, J., Lee, L.S., McRae, K.B., *et al.* (2004). Long-term performance of 'Ellendale' mandarin on seven commercial rootstocks in sub-tropical Australia. *Scientia Horticulturae*. 102: 75-89.
- Smith, H.M., and Samach, A. (2013). Constraints to obtaining consistent annual yields in perennial tree crops. I: Heavy fruit load dominates over vegetative growth. *Plant Science*. 207: 158-167.
- Sparks, D. (1986). Pecan. In: Monselise, S.P. (ed.), *Handbook of Fruit Set and Development*, 323-339. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Sprugel, D.G., Hinckley, T.M., and Schaap, W. (1991). The theory and practice of branch autonomy. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 22: 309-334.
- Stearns, S.C. (1992). *The evolution of life histories*, Oxford, Oxford University Press, p. 249. 180-205.
- Stenzel, N M., Neves, C.S., Gomes, J.C., and Medina, C.C. (2003). Performance of 'Ponkan' mandarin on seven rootstocks in southern Brazil. *HortScience*. 38: 176-178.
- Stepanova, A.N., Yun, J., Robles, L.M., Novak, O., He, W., Guo, *et al.* (2011). The Arabidopsis YUCCA1 flavin monooxygenase functions in the indole-3-pyruvic acid branch of auxin biosynthesis. *The Plant Cell*. 23: 3961-3973.
- Stevenson, M.T., and Shackel, K.A. (1998). Alternate bearing in pistachio as a masting phenomenon: construction cost of reproduction versus vegetative growth and storage. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 123: 1069-1075.
- Tachiki, Y., and Iwasa, Y. (2010). Both seedling banks and specialist seed predators promote the evolution of synchronized and intermittent reproduction (masting) in trees. *Journal of ecology*. 98: 1398-1408.
- Taiz, L., and Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. Sunderland, MA.
- Tamaki, S., Matsuo, S., Wong, H.L., Yokoi, S., and Shimamoto, K. (2007). Hd3a protein is a mobile flowering signal in rice. *Science*. 316: 1033-1036.
- Tajima, Y., Imamura, A., Amano, Y., Kiba, T., Yamashino, T., and Mizuno, T. (2004) Comparative studies on the type-B response regulators revealing their distinctive functions in the His-to-Asp Phosphorelay signal transduction of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology*. 45: 28-39.
- Tamas, I.A., Wallace, D.H., Lundorf, P.M., and Ozbun, J.L. (1979). Effects of older fruits on abortion and abscisic acid concentration of younger fruit in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiology*. 64: 620-622.
- Tan, F.C., and Swain, S.M. (2006). Genetics of flower initiation and development in annual and perennial plants. *Physiologia Plantarum*. 128: 8-17.
- Tanaka, Y., Sano, T., Tamaoki, M., Nakajima, N., Kondo, N., and Hasezawa, S. (2006). Cytokinin and auxin inhibit abscisic acid-induced stomatal closure by enhancing ethylene production in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*. 57: 2259-2266.
- Toivonen, E., and Mutikainen, P. (2012). Differential costs of reproduction in females and hermaphrodites in a gynodioecious plant. *Annals of Botany*. 109: 1159-1164.

- Tuomi, J., Hakala, T., and Haukioja, E. (1983). Alternative concepts of reproductive effort, costs of reproduction, and selection in life-history evolution. *American Zoologist*. 23: 25-34.
- Ueda, M., Sasaki, K., Utsunomiya, N., Inaba, K., and Shimabayashi, Y. (2000). Changes in Physical and Chemical Properties during Maturation of Mango Fruit (*Mangifera indica* L. 'Irwin') Cultured in a Plastic Greenhouse. *Food science and technology research*. 6: 299-305.
- Umehara, M., Hanada, A., Yoshida, S., Akiyama, K., Arite, T., Takeda-Kamiya, N., *et al.* (2008). Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*. 455: 195-200.
- Urban, L., Le Roux, X., Sinoquet, H., Jaffuel, S., and Jannoyer, M. (2003). A biochemical model of photosynthesis for mango leaves: evidence for an effect of the fruit on photosynthetic capacity of nearby leaves. *Tree Physiology*. 23: 289-300.
- Urban, L., Léchaudel, M., and Lu, P. (2004). Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. *Journal of Experimental Botany*. 55: 2075-2085.
- USDA Nutrient data base for standard reference (2008).
- Valiente, J.I., and Albrigo, L.G. (2004). Flower bud induction of sweet orange trees [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]: effect of low temperatures, crop load, and bud age. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 129: 158-164.
- Vincenot, D. (2004). *Mangues de La Réunion – Origines, histoire, caractéristiques, usages culinaires*. Saint-Denis, La Réunion: Océan Éditions.
- Vincenot, D. (2009). V. *Les variétés d'intérêt agronomique*. In : Vincenot D. et Normand F. (eds), *Guide de production intégrée de mangues à La Réunion*, CIRAD et Chambre d'Agriculture de la Réunion, Saint-Pierre. 59-64.
- Waldie, T., Hayward, A., and Beveridge, C.A. (2010). Axillary bud outgrowth in herbaceous shoots: how do strigolactones fit into the picture?. *Plant Molecular Biology*. 73: 27-36.
- Waldie, T., McCulloch, H., and Leyser, O. (2014). Strigolactones and the control of plant development: lessons from shoot branching. *The Plant Journal*. 79: 607-622.
- Watson, M.A. (1984). Developmental constraints: effect on population growth and patterns of resource allocation in a clonal plant. *The American Naturalist*. 123: 411-426.
- Watson, M.A., and Casper, B.B. (1984). Morphogenetic constraints on patterns of carbon distribution in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 15: 233-258.
- Weiner, J.A.C.O.B. (1988). The influence of competition on plant reproduction. *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*. 228-245.
- Whiley, A.W., Rasmussen, T., Saranah, J.B., and Wolstenholme, B.N. (1989). Effect of temperature on growth, dry matter production and starch accumulation in ten mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Horticultural Science*. 64: 753-765.
- Whiley, A.W., Rasmussen, T.S., Wolstenholme, B.N., Saranah, J.B., and Cull, B.W. (1991). Interpretation of growth responses of some mango cultivars grown under controlled temperatures. *Acta horticulturae*. 291: 22-31.
- Wiese, A., Elzinga, N., Wobbes, B., Smeekens, S. (2004). A conserved upstream open reading frame mediates sucrose-induced repression of translation. *Plant Cell*. 16: 17-29.
- Wilcox, J. (1944). Some factors affecting apple yields in the Okanagan Valley, tree size, tree vigor, biennial bearing, and distance of planting. *Scientific Agriculture*. 25: 189-213.
- Wilkie, J.D., Sedgley, M., and Olesen, T. (2008). Regulation of floral initiation in horticultural trees. *Journal of Experimental Botany*. 59: 3215-3228.
- Williams, G.C. (1966). Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lacks's principle. *American Naturalist*. 100: 687-690.



- Williams, M.W., and Edgerton, L.J. (1974). Biennial bearing of apple trees. *Acta Horticulturae*. 3: 343-352.
- Williamson, G.B., and Ickes, K. (2002). Mast fruiting and ENSO cycles—does the cue betray a cause?. *Oikos*. 97: 459-461.
- Wilson, M.F., and Burley, N. (1983). *Mate choice in plants: tactics, mechanisms and consequences*. Princeton Univ. Press, Princeton.
- Wilson, B.F. (2000). Apical control of branch growth and angle in woody plants. *American Journal of Botany*. 87: 601-607.
- WHO (2003). Fruit and vegetable promotion initiative – A meeting report, Geneva, 25-27/08/2003. *World Health Organization* (Ed.), Geneva, Switzerland, p. 29.
- Wolbang, C.M., Chandler, P.M., Smith, J.J., and Ross, J.J. (2004). Auxin from the developing inflorescence is required for the biosynthesis of active gibberellins in barley stems. *Plant Physiology*. 134: 769-776.
- Wolstenholme, B.N. (2010). Alternate bearing in avocado: an overview. Retrieved from [http://www.avocadosource.com/papers/southafrica\\_papers/wolstenholmenigel2010.pdf](http://www.avocadosource.com/papers/southafrica_papers/wolstenholmenigel2010.pdf)
- Wood, B.W., Conner, P.J., Worley, R.E. (2004). Insight into alternate bearing of pecan. *Acta Horticulturae*. 636: 617-629.
- Wood, B.W., and Stahmann, D. (2004). Hedge pruning pecan. *HortTechnology*. 14: 63-72.
- Worley, A.C., and Harder, L. D. (1996). Size-dependent resource allocation and costs of reproduction in *Pinguicula vulgaris* (Lentibulariaceae). *Journal of Ecology*. 84: 195-206.
- Zapata, C., Deléens, E., Chaillou, S., and Magné, C. (2004). Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of plant physiology*. 161: 1031-1040.
- Ziv, D., Zviran, T., Zezak, O., Samach, A., and Irihimovitch, V. (2014). Expression Profiling of FLOWERING LOCUS T-Like Gene in Alternate Bearing 'Hass' Avocado Trees Suggests a Role for PaFT in Avocado Flower Induction. *PloS one*. 9: e110613.



---

## Summary

---

The mango tree (*Mangifera indica*), the fifth fruit crop production in the world, is characterized by an irregular bearing pattern. Irregular bearing is responsible for economic difficulties for producers and for all actors along the fruit industry chain. A better understanding of mechanisms which trigger and maintain irregular bearing is therefore necessary. The first objective of this study is to provide a new perspective on irregular bearing of the mango tree using a concept developed in ecology and evolutionary biology, the costs of reproduction. The experiment was carried out dynamically at several spatial scales, growth unit (GU), scaffold branch, tree, and on four cultivars. Results show a negative effect, or cost, of reproduction on vegetative growth during the following cycle, with cultivar-specific behaviors related to their bearing pattern. In particular, an important reproductive effort reduces the probability of vegetative burst of the bearing GUs. The second objective is to study, for two cultivars and at the GU scale, the anatomical changes of the bearing axis during fruit growth, and hormonal and trophic mechanisms involved in the negative effects of reproduction on vegetative bud outgrowth. Results show that reproduction leads to cambium differentiation mainly in phloem, favoring nutrients and water supply to the fruit. Inflorescences and growing fruits release auxin, contributing to vegetative bud burst inhibition on fruiting GUs. Growing fruits mobilize starch reserves of bearing GUs. Their low starch content at and after harvest contributes to decrease their probability of vegetative burst, and/or delay it when it occurs. The results reveal a strong cultivar effect, and the involvement of these mechanisms in irregular bearing is discussed. Our results allow to better understand the factors maintaining irregular or alternate bearing of different mango cultivars. From a practical perspective, they suggest that pruning techniques adapted to each cultivar and GU fate may contribute to more regular production each year.

**Key-words:** costs of reproduction, cultivar, growth units, hormone, hydraulic, irregular bearing, plant architecture, reproduction, sugar, vegetative growth.

---

## Résumé

---

Le manguier (*Mangifera indica* L.), cinquième production fruitière mondiale, est une espèce à production irrégulière. L'irrégularité de production a des retombées économiques marquées pour tous les acteurs de la filière fruitière. Il apparaît donc important de mieux comprendre les mécanismes qui déclenchent et entretiennent ce phénomène d'irrégularité de production. Le premier objectif de cette thèse est d'apporter un regard nouveau sur l'irrégularité de production du manguier en mobilisant le concept des coûts de la reproduction. Cette étude est effectuée à plusieurs échelles spatiales, unité de croissance (UC), branche charpentière, arbre, et de manière dynamique sur quatre cultivars. Les résultats montrent un effet négatif, ou coût, de la reproduction sur la croissance végétative au cycle suivant, avec des comportements contrastés des cultivars en lien avec leur irrégularité de production. En particulier, un effort reproducteur important diminue la probabilité de débourrement végétatif des UCs porteuses. Le second objectif est d'étudier, chez deux cultivars et à l'échelle de l'UC, les modifications anatomiques et hydrauliques liées à la croissance du fruit, et des mécanismes trophiques et hormonaux contribuant à cet effet négatif de la reproduction sur le débourrement végétatif. Les résultats montrent que la reproduction entraîne une différenciation du cambium de l'UC porteuse principalement en phloème. Les inflorescences et les fruits diffusent de l'auxine qui inhibe le démarrage végétatif des UCs reproductrices. Les fruits en croissance mobilisent les réserves en amidon de l'UC porteuse. Les faibles teneurs en amidon de ces UCs pendant et après la récolte contribuent à réduire leur probabilité de débourrement végétatif, et/ou à le retarder lorsqu'il a lieu. Les résultats diffèrent entre les deux cultivars, et l'implication de ces mécanismes dans l'irrégularité de production est discutée. Nos résultats permettent de mieux comprendre les facteurs qui entretiennent l'irrégularité ou l'alternance de production de différents cultivars de manguiers. De façon appliquée, ils suggèrent que des techniques de taille adaptées à chaque cultivar et nature d'UC pourraient permettre d'obtenir une production plus régulière chaque année.

**Mots clés :** architecture de la plante, coûts de la reproduction, croissance végétative, cultivar, hormone, hydraulique, irrégularité de production, reproduction, sucre, unité de croissance.